

TESIS DE DOCTORADO EN FÍSICA

**POTENCIALES EXTRACELULARES COMO  
DESCRIPTORES DEL COMPORTAMIENTO EN EL  
LÓBULO TEMPORAL**

**Melisa Beatriz Maidana Capitán**  
**Doctorando**

**Dra. Inés Samengo**  
Director

**Miembros del Jurado**  
Dr. Juan Kamienkowski  
Dra. Fabiana Laguna  
Dr. Germán Mato

4 de Abril de 2019

Departamento de Física Médica – Centro Atómico Bariloche

Instituto Balseiro  
Universidad Nacional de Cuyo  
Comisión Nacional de Energía Atómica  
Argentina



A mi familia:

Emanuel, María y Sergio





# Índice de símbolos

AOC: Índice de alteración de la conciencia  
CE: Corteza entorrinal  
CEI: Índice epileptógeno acumulado  
CPF: Corteza prefrontal  
Der: Derecha  
EH: Esclerosis del hipocampo  
EI: Índice epileptógeno  
FFT: Transformada rápida de fourier  
FN: Falsos negativos  
FP: Falsos positivos  
H: Hipocampo  
Izq: Izquierda  
LF: Lóbulo frontal  
LFP: Potencial de campo local  
LP: Lóbulo prefrontal  
LT: Lóbulo temporal  
MI: Índice de modularidad  
PCC: Coeficiente de correlación de Pearson  
PLV: Valor de sincronización de fase (*phase locking value*)  
REM: *Rapid eye movement*  
VN: Verdaderos negativos  
VP: Verdaderos positivos



# Índice de contenidos

Índice de símbolos	v
Índice de contenidos	vii
Índice de figuras	xi
Índice de tablas	xv
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. El lóbulo temporal medial . . . . .	2
1.2. Navegación espacial . . . . .	4
1.3. Patologías en el sistema hipocampal: epilepsia . . . . .	6
1.4. Estructura del trabajo . . . . .	7
<b>2. Recopilación de registros electrofisiológicos</b>	<b>9</b>
2.1. Registros con tetrodos en ratas . . . . .	9
2.2. Tarea comportamental: navegación espacial . . . . .	11
2.2.1. Selección del conjunto de datos . . . . .	14
2.3. Electrodo profundos en epilepsia . . . . .	15
2.3.1. Registros electrofisiológicos en pacientes epilépticos . . . . .	15
<b>3. Codificación neuronal en navegación espacial</b>	<b>19</b>
3.1. Materiales y métodos . . . . .	22
3.1.1. Representación de las variables cinemáticas . . . . .	22
3.1.2. Cantidad de energía espectral en las diferentes bandas de frecuencia del potencial de campo local . . . . .	24
3.1.3. Estadística circular . . . . .	24
3.1.4. Estimación de la información codificada . . . . .	25
3.1.5. Significancia estadística en la medida de información . . . . .	28
3.1.6. Grado de codificación conjunta de variables cinemáticas . . . . .	28
3.1.7. Grado de coexistencia en neuronas cercanas en la codificación de variables cinemáticas . . . . .	30

3.1.8.	Múltiples mecanismos de codificación en neuronas individuales .	31
3.1.9.	Codificación conjunta en pares de neuronas . . . . .	33
3.2.	Resultados . . . . .	34
3.2.1.	Estadística poblacional de la actividad neuronal . . . . .	34
3.2.2.	Ejemplos de neuronas con diferentes mecanismos de codificación	36
3.2.3.	Codificación de la variable Tiempo por neuronas individuales . .	38
3.2.4.	Codificación de múltiples variables cinemáticas por neuronas in- dividuales . . . . .	39
3.2.5.	Codificación conjunta de aspectos cinemáticos . . . . .	43
3.2.6.	Coexistencia regional en la codificación de variables cinemáticas	48
3.2.7.	Múltiples mecanismos de codificación en neuronas individuales .	50
3.2.8.	Codificación de variables cinemáticas por grupos de neuronas . .	57
3.3.	Discusión . . . . .	59
<b>4.</b>	<b>Propiedades de ritmos colectivos durante navegación espacial</b>	<b>63</b>
4.1.	Materiales y métodos . . . . .	65
4.1.1.	Cantidad de energía espectral para diferentes comportamientos .	66
4.1.2.	Modulación en la amplitud de las señales filtradas . . . . .	68
4.1.3.	Acoplamiento fase-amplitud entre bandas <i>delta</i> y <i>theta</i> . . . . .	70
4.1.4.	Análisis de subrogados . . . . .	76
4.1.5.	Significancia estadística . . . . .	79
4.1.6.	Aprendizaje en amplitud y acoplamiento . . . . .	80
4.2.	Resultados . . . . .	80
4.2.1.	Caracterización del ritmo delta: FFT . . . . .	80
4.2.2.	Modulación de la amplitud en banda delta . . . . .	84
4.2.3.	Acoplamiento fase-amplitud entre <i>delta</i> y <i>theta</i> . . . . .	89
4.2.4.	Aprendizaje a lo largo de registros . . . . .	110
4.3.	Discusión . . . . .	118
<b>5.</b>	<b>Ritmos durante episodios epilépticos</b>	<b>121</b>
5.1.	Materiales y métodos . . . . .	123
5.1.1.	Análisis espectral: representaciones . . . . .	123
5.1.2.	Análisis de covarianza . . . . .	127
5.1.3.	Normalización o <i>whitening</i> . . . . .	129
5.1.4.	Análisis de covarianza en el tiempo . . . . .	130
5.1.5.	Significancia estadística . . . . .	132
5.1.6.	Superposición, precisión y exhaustividad en un clasificador. . .	134
5.1.7.	Validación cruzada. . . . .	134
5.2.	Resultados . . . . .	136

---

5.2.1. Análisis de covarianza en el espacio tiempo-frecuencia . . . . .	136
5.2.2. Detección automática de crisis . . . . .	139
5.2.3. Propagación espacio-temporal de la crisis . . . . .	149
5.2.4. Propagación y alteración de la conciencia . . . . .	152
5.2.5. Análisis de simetrías y alteración de la conciencia . . . . .	155
5.3. Discusión . . . . .	158
<b>6. Conclusiones</b>	<b>161</b>
<b>A. Nombres de electrodos y localización</b>	<b>165</b>
<b>B. Combinaciones para códigos</b>	<b>173</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>177</b>
<b>Publicaciones asociadas</b>	<b>189</b>
<b>Agradecimientos</b>	<b>191</b>



# Índice de figuras

1.1. Hipocampo. . . . .	2
1.2. Ejemplos de células que forman el GPS del cerebro. . . . .	5
2.1. Tetrodos en ratas. . . . .	10
2.2. Protocolo de carrito. . . . .	11
2.3. Tarea comportamental del protocolo exponencial. . . . .	12
2.4. Tarea comportamental del protocolo cuadrado. . . . .	13
2.5. Protocolos de velocidad . . . . .	14
2.6. Ejemplo de electrodos profundos. . . . .	15
2.7. Electrodos profundos en pacientes hospitalarios. . . . .	16
2.8. Ejemplo de actividad eléctrica en contactos de macroelectrodos. . . . .	17
3.1. Segmentación de las variables cinemáticas . . . . .	23
3.2. Densidad de potencia espectral del potencial de campo local. . . . .	24
3.3. Modelado de las distribuciones condicionadas de tasa de disparos y fase. . . . .	27
3.4. Ejemplos teóricos sobre pares de códigos con superposición variable en la población. . . . .	32
3.5. Distribución de las propiedades de la respuesta de las neuronas registradas. . . . .	35
3.6. Ejemplos de neuronas que codifican distintas variables cinemáticas con los mecanismos estudiados. . . . .	37
3.7. Codificación de la variable Tiempo por neuronas individuales. . . . .	38
3.8. Relación entre la estadística de los disparos y la información sobre Tiempo. . . . .	40
3.9. Codificación de múltiples variables cinemáticas en neuronas individuales. . . . .	42
3.10. Distribución de probabilidad conjunta de codificación en CE. . . . .	43
3.11. Distribución de probabilidad conjunta de codificación en H. . . . .	44
3.12. Distribución de probabilidad de codificación de $m$ atributos, $P(m)$ en CE. . . . .	45
3.13. Distribución de probabilidad de codificación de $m$ atributos, $P(m)$ en H. . . . .	46
3.14. Cantidad de sinergia y redundancia entre pares de atributos cinemáticos. . . . .	47
3.15. Distribución de probabilidad $P_{bSi}(k)$ para $k$ neuronas en CE tomadas de un total $M = 5$ . . . . .	49

3.16. Distribución de probabilidad $P_{bsi}(k)$ para $k$ neuronas en H tomadas de un total $M = 5$ . . . . .	49
3.17. Comparación entre la distribución de probabilidad de codificación conjunta y $P_{bsi}(k)$ para 5 neuronas. . . . .	50
3.18. Distribución de probabilidad de codificación con $n$ mecanismos en CE. . . . .	52
3.19. Distribución de probabilidad de codificación con $n$ mecanismos en H. . . . .	53
3.20. Distribución de probabilidad condicionada a la codificación con $n$ mecanismos en CE e H. . . . .	54
3.21. Grado de superposición entre mecanismos de codificación neuronal. . . . .	56
3.22. Cantidad de sinergia y redundancia entre los pares de neuronas. . . . .	58
4.1. Transformada de Fourier (espectro) para distintos comportamientos . . . . .	67
4.2. Segmentación de los protocolos de velocidad. . . . .	68
4.3. Agrupación de repeticiones del experimento. . . . .	69
4.4. Ejemplos de formas de señales acopladas. . . . .	70
4.5. Ejemplos de histogramas de modularidad . . . . .	72
4.6. Ejemplos de Comodulogramas . . . . .	73
4.7. Segmentación de los protocolos de velocidad. . . . .	74
4.8. Métodos de subrogados. . . . .	77
4.9. Múltiples histogramas de modularidad: ejemplos cualitativos. . . . .	78
4.10. Espectros medios de potencias para diferentes velocidades. . . . .	81
4.11. Potencia total de cada banda en CE. . . . .	83
4.12. Dependencia de diferentes bandas de frecuencia del potencial de campo local con el perfil de velocidades. . . . .	85
4.13. Significancia estadística de amplitudes. . . . .	87
4.14. Significancia estadística de amplitudes. . . . .	88
4.15. Ejemplos de histogramas de modulación fase-amplitud. . . . .	90
4.16. Ejemplos de comodulograma en navegación. . . . .	91
4.17. Modulación en el tiempo del MI. . . . .	93
4.18. Modulación en el tiempo del <i>Phase locking value</i> (PLV). . . . .	94
4.19. Efecto de altas y bajas amplitudes de la banda de frecuencia en la modulación del MI para las ratas con protocolo aprendido. . . . .	95
4.20. MI como producto de amplitudes. . . . .	96
4.21. MI vs producto de amplitudes. . . . .	96
4.22. Comodulogramas en aceleración. . . . .	98
4.23. Significancia estadística del MI en aceleración: protocolo exponencial . . . . .	100
4.24. Significancia estadística del MI en aceleración: protocolo cuadrado . . . . .	101
4.25. MI en direcciones para protocolos aleatorios. . . . .	102
4.26. Comodulogramas en velocidad. . . . .	103



4.27. Análisis de subrogados en velocidad. . . . .	104
4.28. Significancia estadística del MI en velocidad: protocolo exponencial. . .	105
4.29. Significancia estadística del MI en velocidad: protocolo cuadrado. . . .	106
4.30. MI en distintas velocidades para protocolos aleatorios. . . . .	109
4.31. MI en distintas velocidades para protocolos de libre navegación. . . . .	110
4.32. Amplitud media en múltiples días de registro. . . . .	111
4.33. Aprendizaje del protocolo en el tiempo. . . . .	112
4.34. Significancia del aprendizaje de amplitud en el protocolo cuadrado. . .	113
4.35. Significancia del aprendizaje de amplitud. . . . .	114
4.36. Índice de modularidad en diferentes días de registro. . . . .	115
4.37. Aprendizaje de la modulación del acoplamiento en el tiempo. . . . .	115
4.38. Significancia del aprendizaje de MI con aceleración: protocolo exponencial.	116
4.39. Significancia del aprendizaje de MI con aceleración: protocolo cuadrado.	117
4.40. Significancia del aprendizaje de MI con velocidad. . . . .	118
5.1. Caracterización de las crisis: duración. . . . .	123
5.2. Caracterización de las crisis: AOC. . . . .	124
5.3. Correlación duración vs AOC. . . . .	124
5.4. Ejemplos de espectrogramas. . . . .	125
5.5. Ejemplo representación en espacio de potencias . . . . .	126
5.6. Ejemplos de datos generados por distribuciones gaussianas. . . . .	127
5.7. Ejemplo análisis de covarianza. . . . .	128
5.8. Ejemplo señal generada por una distribución gaussiana bivariada. . . .	130
5.9. Renormalización de los datos ( <i>whitening</i> ). . . . .	131
5.10. Distribuciones de probabilidad de correlaciones. . . . .	133
5.11. Ejemplo de autovalores. . . . .	133
5.12. Precisión y exhaustividad. . . . .	135
5.13. Señales temporales filtradas en bandas. . . . .	136
5.14. Representación de una muestra de la distribución de potencia en bandas de frecuencia. . . . .	137
5.15. Proyección de la dirección principal en el espacio de frecuencias. . . .	138
5.16. Ejemplo de análisis de covarianza en ventana deslizante. . . . .	140
5.17. Ejemplo de evolución en el tiempo del índice epileptógeno. . . . .	142
5.18. Detección de crisis por covarianza. . . . .	143
5.19. Ejemplo de superposición binaria. . . . .	145
5.20. Distribución de valores de superposición para los 109 electrodos. . . .	146
5.21. Distribución de valores de superposición para los 109 electrodos utili- zando el índice epileptógeno. . . . .	146
5.22. Ejemplo de distribución de valores del umbral $\lambda_{test}$ . . . . .	147

5.23. Precisión y exhaustividad. . . . .	150
5.24. Autovalor principal y propagación de la crisis en dos electrodos. . . . .	151
5.25. Índice epileptógeno en el tiempo para dos electrodos. . . . .	152
5.26. Detección de crisis en múltiple electrodos. . . . .	153
5.27. Número de electrodos vs AOC. . . . .	154
5.28. Autovalores principales para distintos valores de AOC. . . . .	156
5.29. Autovalor principal como función del tiempo. . . . .	157
5.30. Correlación autovalor principal vs AOC. . . . .	157
5.31. Evolución del PCC entre el AOC y el principal autovalor. . . . .	158

# Índice de tablas

5.1. Detección binaria con distintos umbrales con algoritmo de covarianza. . . . .	144
5.2. Detección binaria con distintos umbrales $\lambda_{EI}$ con índice epileptógeno. . . . .	144
5.3. Validación cruzada paciente por paciente. . . . .	147
5.4. Detección : <i>Exhaustividad</i> con distintos umbrales. . . . .	148
5.5. Detección: <i>Exhaustividad</i> con distintas ventanas de superposición. . . . .	148
5.6. Detección: <i>Precisión</i> con distintos umbrales. . . . .	149
5.7. Detección: <i>Precisión</i> con distintas ventanas de superposición. . . . .	149
5.8. Detección de crisis con distinto tamaño de superposición: <i>Exhaustividad</i> utilizando todos los electrodos. . . . .	149
5.9. Detección de crisis con distinto tamaño de superposición: <i>Precisión</i> utilizando todos los electrodos. . . . .	150
5.10. Tiempo de detección. . . . .	150
A.1. Ubicación electrodos paciente 1 . . . . .	166
A.2. Ubicación electrodos paciente 2 . . . . .	167
A.3. Ubicación electrodos paciente 3.1 . . . . .	168
A.4. Ubicación electrodos paciente 3.2 . . . . .	169
A.5. Ubicación electrodos paciente 4.1 . . . . .	170
A.6. Ubicación electrodos paciente 4.2 . . . . .	171
A.7. Ubicación electrodos paciente 5 . . . . .	172
B.1. Combinaciones posibles de codificación celular para múltiples atributos:1	174
B.2. Combinaciones posibles de codificación celular para múltiples atributos:2	175
B.3. Combinaciones posibles de codificación conjunta de con múltiples mecanismos. . . . .	175



# Resumen

El potencial eléctrico del medio extracelular que rodea a las neuronas del sistema nervioso fluctúa constantemente. Estas oscilaciones resultan de sumar las perturbaciones producidas por los potenciales de acción y los potenciales sinápticos de las neuronas ubicadas en un entorno del electrodo de medición, y su amplitud es tanto más grande cuanto mayor sea la sincronización entre neuronas. Se han identificado diversos ritmos colectivos cuyas características están correlacionadas con variables comportamentales. Por ejemplo, se sabe que en roedores, el ritmo theta (6-12 Hz) coordina los cómputos involucrados en orientación y navegación en el espacio. En humanos, el ritmo beta (16-31 Hz) crece durante el procesamiento consciente de la información. Sin embargo, hasta el momento se desconoce el papel que juegan los ritmos lentos en este tipo de tareas, aún cuando la amplitud de las oscilaciones lentas es comparable a la de otras bandas de frecuencia. En esta tesis, analizamos la relevancia de las oscilaciones lentas en tareas de navegación espacial en roedores, y en procesamiento de información en pacientes epilépticos humanos. En ambos casos, estudiamos los registros obtenidos por nuestros colaboradores con electrodos que fueron implantados con fines académicos (en el caso de roedores) o médicos (en seres humanos). En el caso de roedores, observamos que tanto la amplitud de las ondas lentas como su grado de acoplamiento con otras bandas de frecuencia están modulados por aspectos cinemáticos de la trayectoria recorrida por el animal, tales como la velocidad o la aceleración. Observamos también que los ritmos lentos organizan los disparos de neuronas individuales en el lóbulo temporal, de forma que la información cinemática codificada por dichas neuronas depende de la fase del ritmo en la cual se ubican los potenciales de acción. En el caso de los pacientes epilépticos, encontramos que las oscilaciones lentas fluctúan marcadamente tanto dentro como fuera de las crisis, dificultando la detección automática de los períodos ictales, y el grado de pérdida de conciencia. Proponemos un mecanismo de normalización que permite neutralizar estas fluctuaciones, y en consecuencia, detectar las crisis con un algoritmo sencillo, factible de ser implementado online. Analizando la señal normalizada, es posible identificar un rasgo fisiológico asociado a las crisis que conllevan un alto grado de pérdida de conciencia: el cambio en la distribución de probabilidad asociada a la potencia en diferentes bandas, unas pocas decenas de milisegundos después del inicio de la crisis. Concluimos por ende que, a diferencia de lo que se creía hasta el

momento, un adecuado procesamiento de las componentes lentas del potencial extracelular permite una mejor interpretación del procesamiento de información en roedores y en humanos.

# Abstract

The electric potential of the extracellular medium surrounding neurons fluctuates constantly. These oscillations result from the summation of perturbations produced by the action potentials and the synaptic potentials of neurons located in the vicinity of the measuring electrode, and their amplitude grows as the synchronization between neurons increases. Several collective rhythms have been shown to be correlated with behavioral variables. For example, in rodents, the theta rhythm (6-12 Hz) coordinates the computations involved in spatial orientation and navigation. In humans, the beta rhythm (16-31 Hz) grows during conscious information processing. Yet, the role played by slow rhythms in this type of tasks remains so far unknown, even though the amplitude of the slow components is typically comparable to that of other frequency bands. In this thesis, we analyze the behaviour of slow oscillations in spatial navigation tasks in rodents, and in information processing in human epileptic patients. In both cases, we study the signals obtained with electrodes that were implanted into the brain of the studied subjects for academic reasons (in rodents), and for medical purposes (in humans). In the case of rodents, we observed that both the amplitude of the waves and their degree of coupling with other frequency bands are modulated by kinematic features, such as the running speed or acceleration of the animal. We also found that the slow rhythms organize the firing patterns of individual neurons, so that some kinematic features of the trajectory are correlated with the phase of the slow rhythms at the time in which neurons spike. In the case of epileptic patients, we showed that the slow oscillations fluctuate markedly both inside and outside the seizure, forestalling the automatic detection of ictal periods, and the search for physiological correlates of the degree of loss of consciousness. Here we propose a mechanism that allows us to neutralize these fluctuations, and consequently, to also develop a simple algorithm, feasible to be implemented online, with which the crisis can be identified. By analyzing the normalized signal, we were able to determine a physiological marker of the degree of loss of consciousness: changes in the shape of the power spectrum of the signal, a few tens of milliseconds after the onset of the crisis. We conclude that, unlike the prevalent belief thus far, a proper processing of the slow components of the extracellular potential allows a better interpretation of the way information is processed by rodents and humans.





# 1

## Introducción

*“ Me dijo: Más recuerdos tengo yo solo que los que habrán tenido todos los hombres desde que el mundo es mundo”. Y también: “Mis sueños son como la vigilia de ustedes”. Y también, hacia el alba: “Mi memoria, señor, es como vaciadero de basuras”*

– Jorge Luis Borges, *Funes el memorioso*

El fresco olor del pasto recién cortado, el estruendoso sonido de una lluvia con tormenta de verano que hace sentir que se va a caer el cielo, el tacto a las bolitas de aire en los envoltorios de plástico, el sabor de una Rhodesia (probablemente mi golosina preferida), las miles de fotos que mi mamá guarda en el ropero; detonan en mi cabeza recuerdos del jardín de juegos donde pasaba las tardes en la escuela de verano, de aquel día en el que una lluvia inundó toda la ciudad donde vivía dejando dos pueblos separados por un puente submarino, de mi abuela enseñándome su pasatiempo de aplastar y hacer sonar las bolitas de los envoltorios, del kiosco de mis papás donde me escabullía a robar golosinas, o de toda una historia que puede ser revivida en imágenes desde antes de que naciera hasta hoy. Todos estos sentidos pueden detonar una cadena de recuerdos y, mientras lo pienso, me doy cuenta de que gran parte de lo que hoy hace a mi persona pasa por esa colección de pequeños episodios, pequeños fragmentos. Pero ¿qué pasaría si un día no fuese capaz de generar este almacenamiento, de atesorar en algún lugar de mi cerebro esos pequeños detalles que hacen que pueda transportarme a distintos momentos de mi vida, revivirlos? ¿Y si no pudiera agregar nuevos o recordar eventos y personas relevantes, que no están incluidas en esa colección de recuerdos de infancia?

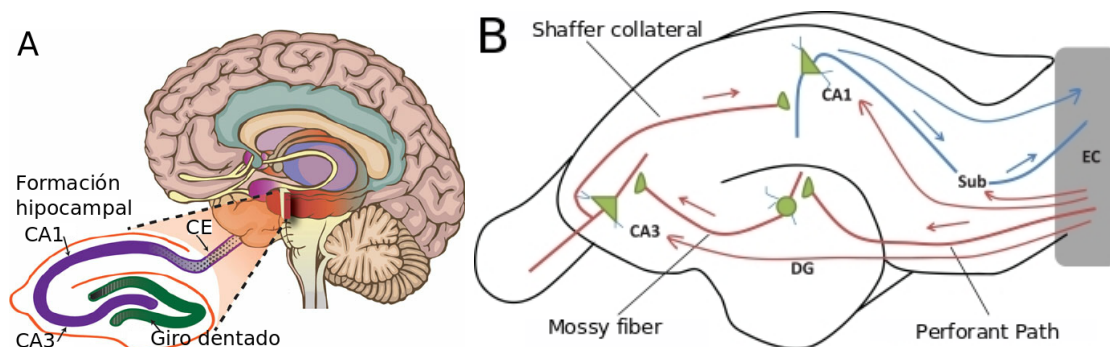
Muchas películas, como *Memento* o *Como si fuera la primera vez*, narran la historia de personas que, por diferentes razones, padecieron amnesia anterógrada. Es decir, si bien los personajes podían recordar a la perfección hechos de su pasado, no podían generar nuevos recuerdos del día a día. El caso real más estudiado con este tipo de patología es el de *Henry Molaison* (conocido durante muchos años por sus iniciales, HM), un paciente con epilepsia que en 1953 fue sometido a una cirugía en la cual le extirparon

aproximadamente dos terceras partes de su lóbulo temporal medial (hipocampo, giro hipocampal y amígdala, quedando la parte restante infuncional y la corteza entorrinal destruida). Luego de la cirugía, si bien los episodios epilépticos disminuyeron, HM quedó incapacitado para formar nuevos recuerdos episódicos y perdió capacidades para ubicarse en el espacio, aunque su memoria de trabajo y procedimental quedaron inafectadas. Por otro lado, si bien no podía generar nuevos recuerdos a largo plazo, podía evocar información de eventos previos a la cirugía. Es así como durante muchos años HM se convirtió en el principal sujeto de estudio de almacenamiento y evocación de memoria episódica así como también de memoria espacial. Desde entonces, numerosos estudios se han volcado al entendimiento del funcionamiento de estructuras neuronales subyacentes durante los procesos de alocación de memoria y navegación espacial en el lóbulo temporal.

El presente trabajo se basa en el estudio de dos sistemas que apuntan a entender el funcionamiento del lóbulo temporal, y su correlación con el comportamiento o con procesos cognitivos. Por un lado se presenta el estudio de señales electrofisiológicas registradas en ratas durante tareas de navegación espacial, y por el otro el estudio de registros de actividad eléctrica en pacientes con epilepsia refractaria.

## 1.1. El lóbulo temporal medial

El lóbulo temporal medial consiste en un conjunto de estructuras que se consideran fundamentales para la memoria declarativa (memoria episódica y memoria semántica). Incluye el hipocampo (H) y las cortezas perirrinal, entorrinal (CE) y parahipocampal [1]. El sistema CE-H juega un rol importante en el almacenamiento y evocación de recuerdos.



**Figura 1.1: Hipocampo.** (A) Hipocampo humano. Se muestran las comisuras hipocampales, con CA1, CA3 y giro dentado, y además la corteza entorrinal (CE). Imagen adaptada de *Wikipedia*. (B) Corte transversal del hipocampo. Se muestran las regiones CA1, CA3, giro dentado (DG), subiculum (Sub) y corteza entorrinal (EC). Además se muestran las conexiones: *Shaffer path*, *Mossy fiber* y *Perforant path*. Imagen adaptada de *Kainic Acid-Induced Neurotoxicity: Targeting Glial Responses and Glia-Derived Cytokines* [2].

El hipocampo está formado por subregiones que cumplen distintas funciones: CA1,

CA3, fibras mossy (*mossy fibers*), el camino perforante (*perforant path*) y giro dentado (ver Figura 1.1) [3, 4]. CA3 es una red autoasociativa con capacidad de almacenamiento que depende de la cantidad de neuronas involucradas y de la dilución de las conexiones entre ellas. Dado que la capacidad del sistema hipocampal CA3 es limitada, es necesario un sistema que permita olvidar información que ya ha sido almacenada para dar lugar a nuevos recuerdos, y que la capacidad de la red no sea excedida. La capacidad limitada de CA3 para almacenar información constituye un fuerte argumento en favor de la hipótesis que sostiene que la información es transferida desde el hipocampo hacia la corteza cerebral. El hecho de que sujetos con daño en las regiones hipocampales puedan acceder a recuerdos del pasado remoto provee evidencia experimental a favor de esta teoría.

Las células de CA3 reciben entradas de las fibras mossy (altamente diluidas) y del camino perforante (entradas débiles). Se cree que la alta dilución de las primeras permite la generación de aleatoriedad en las representaciones de CA3 para lograr nuevos aprendizajes, mientras que el segundo sería el involucrado en la recuperación del recuerdo existente.

El giro dentado precede en la transmisión de las señales a CA3. Actúa como una red competitiva que produce dilución de los patrones durante el aprendizaje para que sean almacenados de manera eficiente (no redundante) en CA3. El giro dentado realiza un proceso de separación (u ortogonalización) permitiendo al hipocampo almacenar diferentes recuerdos de eventos similares [3]. El giro dentado puede ser importante para ayudar y preparar las representaciones espaciales para la red CA3, además de ser la región donde ocurre la neurogénesis adulta [5]. CA3 se conecta con CA1 via las sinapsis colaterales de Shaeffer (*Shaeffer collateral synapsis*), las cuales son modificables. Estas conexiones permiten que la información presente en CA3 sea llevada hacia las neuronas de CA1. Las partes separadas de un recuerdo episódico podrían ser combinadas todas juntas por aprendizaje competitivo en CA1 para producir una recuperación efectiva y evocar los recuerdos almacenados en la corteza (via caminos de retroproyección).

La corteza entorrinal es la interfaz principal entre el hipocampo y la corteza conformando un *hub* de distribución en la red de memoria, navegación y de percepción del tiempo[6]. La CE está organizada modularmente en columnas perpendiculares al eje dorsal. Las capas II y III (superficiales) tienen aferencias hacia el giro dentado y el hipocampo. Las capas profundas, especialmente la capa V, reciben salidas del hipocampo e intercambian conexiones con otras áreas corticales que proyectan a la CE superficial.

## 1.2. Navegación espacial

En 1978 *John O'Keefe* [7] descubrió que en la región CA1 del hipocampo existía un conjunto de células cuyo campo receptivo estaba principalmente dominado por estímulos espaciales: células de lugar (*place cells*). Estas mismas células tendrían un rol fundamental en la memoria de recuerdos episódicos, como por ejemplo, representando el contexto espacial en que tuvo lugar cada recuerdo almacenado. Este conjunto de células tiene una tasa de disparos casi nula en todo el espacio exceptuando una región limitada: el campo receptivo de cada célula. Diferentes células cubren distintas regiones del espacio de manera de codificar la totalidad del entorno mediante distintas neuronas. Estas células se remapean, es decir cambian su tasa de disparo (remapeo local) o su posición (remapeo global), cuando se cambia el entorno [8].

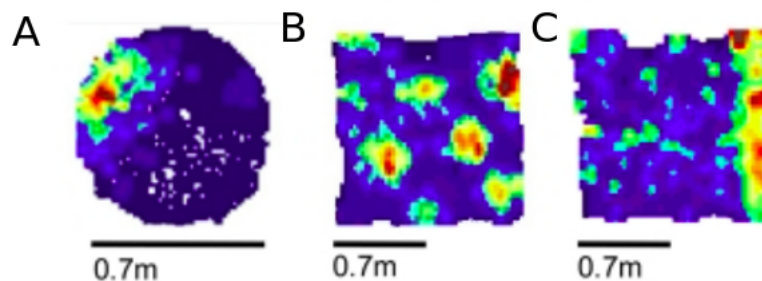
Motivados por descubrir qué influencia tienen sobre estas células las estructuras neuronales que proyectan sobre hipocampo, los científicos *May-Britt Moser* y *Edvard Moser* iniciaron su laboratorio centrado en el estudio del sistema entorrinal y su relación con la navegación espacial. El objetivo era describir la modulación espacial de la actividad neuronal en capas de la corteza entorrinal media (CEm), y cómo las propiedades de estas células se relacionan con las propiedades de las células hipocampales. En 2004 se publicó el primer trabajo que demostró que la actividad de las células grilla (*grid cells*) de la CEm provee una métrica espacial [9]. Cada una de estas células contiene múltiples campos receptivos ubicados en los vértices de una estructura hexagonal periódica bidimensional. El tamaño del campo receptivo es proporcional a aproximadamente  $\frac{1}{\sqrt{2}}$  la distancia entre vértices de la estructura hexagonal [10], y varía sistemáticamente con la posición en el eje postrinal-ventral. Las células grilla se organizan de manera tal que células cercanas tienen tamaños y espaciados similares, pero no comparten orientación. Además, la grilla no está confinada por los bordes del entorno, es decir que cuando los bordes se expanden el número de nodos aumenta pero la densidad permanece constante. Durante el remapeo global en el hipocampo, el mapa de células grilla de CEm se realinea con los cambios del entorno pero sin perder sus propiedades espaciales intrínsecas [11].

A su vez, el ritmo colectivo conocido como potencial de campo local (LFP) tiene algunas propiedades que se relacionan con el comportamiento del sujeto. Típicamente se asocian distintas bandas de frecuencia de las oscilaciones con diferentes estados conscientes, y se nombran con las letras griegas *delta*, *theta*, *alpha*, *beta*, *gamma* según el estado comportamental que describen. En diferentes organismos estas bandas corresponden a distintas frecuencias ya que se modifica su rango al cambiar el tamaño del cerebro estudiado [12]. En el sistema hipocampal de ratas, la principal señal oscilatoria durante la anestesia corresponde al ritmo *delta* (1,5 – 4Hz) mientras que, durante la navegación espacial y el comportamiento activo, la oscilación más clara corresponde a

la banda *theta* (6 – 12 Hz) [13, 14].

Tanto las células de lugar como las células grilla modulan su tasa de disparo con la fase de la actividad global extracelular emergente. Principalmente, se ha descrito la relación con el ritmo *theta* vía un fenómeno conocido como precesión de fase. Durante la precesión de fase, la fase a la que ocurren los disparos dentro de un campo receptivo (*place field* o *grid field*) respecto del potencial de campo filtrado en *theta* decrece linealmente con la posición dentro del campo [15, 16].

En los años siguientes se descubrieron un conjunto de células que permiten completar el funcionamiento de un sistema cerebral que podría funcionar como integrador de caminos: células de borde [17], células de dirección [18], de dirección de cabeza [19] y células de velocidad [20]. Este conjunto de células da lugar al conjunto de mecanismos mínimos e indispensables para lograr la localización espacial: una métrica (*grid cells*), un indicador de lugar (*place cells*) y una brújula (*head direction cells*) [21, 22]. En 2014 estos trabajos le valieron el premio Nobel de Medicina y Fisiología a *John O'Keefe*, *May-Britt Moser* y *Edvard Moser* por el descubrimiento de lo que se denominó **GPS del cerebro** por proporcionar el conjunto de herramientas necesarias para lograr la ubicación espacial. La Figura 1.2 muestra ejemplos de las tasas de disparos de algunas de las células que forman este mecanismo de GPS interno.



**Figura 1.2: Ejemplos de células que forman el GPS del cerebro.** Mapa de tasa de disparos de neuronas hipocámpales que codifican distintas características cinemáticas del movimiento. En color rojo se representan tasa de disparos altas y azul tasa de disparos baja. (A) Células de lugar. (B) Célula grilla. (C) Célula de borde. Imagen adaptada de *Vestibular and Attractor Network Basis of the Head Direction Cell Signal in Subcortical Circuits* [23].

Este grupo de células constituye un sistema de navegación endógeno, ya que no se altera significativamente cuando se disminuyen o cambian los estímulos externos. Por ejemplo, en condiciones de oscuridad, las células grilla siguen respondiendo con un patrón regular y los campos de las células de lugar se desplazan en cantidades fijas, y las células de velocidad siguen respondiendo con tasa de disparos proporcional a la velocidad. Lo que aún se desconoce el mecanismo de conformación de estos patrones, si son innatos o aprendidos con la experiencia.

Esta evidencia sugiere que la red del sistema hipocámpal mapea el entorno a un sistema en el cual el espacio y el movimiento son representados mediante la actividad

neuronal. La coordinación de todas las partes de este sistema es fundamental para lograr la localización espacial, sin embargo se desconoce cuáles son las propiedades conjuntas de codificación de la red completa respecto a todas las variables cinemáticas involucradas, y si los distintos mecanismos de codificación fisiológicos se encuentran o no relacionados entre sí. A su vez, se sabe que la codificación individual neuronal se vincula directamente con el potencial de campo local en su banda predominante (theta), pero se desconoce si existen otros ritmos emergentes que puedan estar aportando información al sistema.

### 1.3. Patologías en el sistema hipocampal: epilepsia

Existen afecciones del sistema hipocampal que pueden producir disminuciones en las capacidades cognitivas relacionadas a la memoria episódica y la navegación espacial. Una de las patologías más comunes que afecta al lóbulo temporal es la epilepsia, como en el ejemplo de HM. La epilepsia es una enfermedad provocada por un desequilibrio en la actividad eléctrica de las neuronas de alguna zona del cerebro que predispone al padecimiento de convulsiones. Una convulsión está caracterizada por una actividad neuronal anormal y excesiva o bien sincrónica en el cerebro, normalmente de corta duración. Las crisis epilépticas pueden tener diferentes características respecto a la duración, alteración de la conciencia o diversas manifestaciones clínicas. Si bien existen diferencias en la terminología de clasificación [24], según la clasificación internacional de las convulsiones epilépticas las crisis pueden ser:

1. Generalizadas (simétricas en ambos lados y sin inicio local)
2. Parciales o focales (las crisis inician en forma local)
  - a) Simples (sin pérdida del estado de alerta o alteración en la función psíquica)
  - b) Complejas (con trastorno de la conciencia)
    - Inician como crisis parciales simples y progresan hasta afectar el estado de conciencia
    - Con trastorno de la conciencia desde el principio
3. Síndromes epilépticos especiales

La esclerosis del hipocampo (EH) es la causa de un síndrome epiléptico particular conocido como *epilepsia temporal medial con EH*. Su descubrimiento constituyó uno de los avances más importantes del estudio de neuroimágenes, permitiendo su diagnóstico con alta precisión[25, 26]. Los pacientes con epilepsia temporal medial con EH suelen tener mala respuesta al tratamiento farmacológico, por lo cual el tratamiento quirúrgico

resulta una excelente alternativa [27]. Lo que aún no queda claro es si la epilepsia es la causa o consecuencia de la atrofia hipocampal.

La cirugía requiere, en algunos casos, hacer uso de electrodos intracraneales para el sensado de actividad en la zona de inicio ictal (ZII), es decir, la zona donde realmente comienzan las crisis. Estos registros pueden proporcionar información respecto a las anomalías en la actividad eléctrica asociadas al desarrollo del episodio epiléptico. Algunos autores han observado que la zona de inicio ictal podría estar ubicada tanto en el hipocampo en sí, como en la amígdala y/o la corteza entorrinal. Esto sería indicativo de que los procesos generadores de las crisis podrían ser múltiples. Sin embargo, tampoco se ha podido aclarar si esta es una consecuencia o una causa del trastorno. Además, la presencia de alteraciones en estructuras anatómicas extrahipocampales, asociadas a la EH, sugieren la posibilidad de que cuando se produce un daño en el hipocampo este se haría extensivo también hacia otras áreas con las cuales se vincula anátomo-funcionalmente [28, 29].

Según [30], entre el 60 % y el 80 % de las crisis en los pacientes que sufren epilepsia del lóbulo temporal tienen alteración de la conciencia. La interrupción de la experiencia consciente repercute fuertemente en el normal desarrollo de la actividad cotidiana y calidad de vida de los pacientes, por lo que resulta de particular interés el estudio de las posibles causas neurológicas subyacentes.

Si bien no existe una definición ampliamente aceptada de lo que es la conciencia [31, 32], a lo largo de los años se han desarrollado múltiples escalas para cuantificar el trastorno del estado consciente durante el desarrollo de crisis epilépticas del lóbulo temporal. Dicha cuantificación permite establecer relaciones entre esta alteración y los mecanismos neuronales subyacentes al desarrollo de la crisis. Trabajos como [33, 34] se centran en estudiar la sincronización excesiva entre áreas distantes que resultan críticas para el procesamiento consciente, sugiriendo que tal sincronización sobrecarga las estructuras encargadas de dicho procesamiento. Sin embargo, no queda claro si existe alguna característica espacio-temporal de la propagación de crisis parciales que puedan tener un impacto en la alteración de la conciencia.

## 1.4. Estructura del trabajo

Este trabajo se encuentra dividido en cinco capítulos adicionales al presente. En el Capítulo 2 describiremos las técnicas de registro electrofisiológico que se utilizan para medir actividad cerebral con diferentes tipos de implantes, tanto en ratas como en humanos, y se corresponden con experimentos y registros que fueron realizados por nuestros colaboradores. En los siguientes tres capítulos presentaremos la estructura troncal de esta tesis y mostraremos los principales resultados obtenidos. Primero, los Capítulos 3 y 4 estarán destinados al análisis de datos de registros durante navegación

espacial en ratas. Ambos capítulos poseen una breve introducción al tema particular, una sección con los métodos utilizados para el análisis, una sección de resultados y una discusión del capítulo. Los métodos de ambos capítulos constituyen un conjunto de herramientas que son necesarias para entender en detalle cómo se realizó el procesamiento de los datos, pero pueden ser omitidos a la hora de leer los resultados, porque no son necesarios para entender las preguntas que planteamos, el producto del análisis realizado, ni las conclusiones que él se derivan. En las subsecciones de resultados se especifica qué subsecciones metodológicas se utilizan.

En el Capítulo 3 describiremos los distintos mecanismos de codificación neuronal, y la interacción entre códigos neuronales, variables cinemáticas codificadas y grupos neuronales. Mostraremos el uso de herramientas de teoría de la información para cuantificar sinergias y redundancias en la codificación tanto de estímulos como de respuestas. En el Capítulo 4 nos centraremos en la actividad colectiva (o potencial de campo local) registrada en las inmediaciones de los grupos neuronales. Describiremos cómo las propiedades de esta actividad se relacionan con el estado cinemático del animal y con el aprendizaje de la tarea de navegación. En el Capítulo 5 analizaremos la actividad registrada en electrodos profundos implantados en humanos en múltiples regiones en simultáneo. Propondremos un biomarcador para la detección del inicio y propagación eléctrica de crisis basado en el análisis de covarianza de las señales en tiempo-frecuencia y, en sección de métodos de este capítulo, explicaremos cómo utilizarlo para detectar crisis automáticamente. A continuación, indicaremos cuáles son las medidas en estos registros que pueden relacionarse con alteraciones cognitivas durante el episodio epiléptico (particularmente la alteración de la conciencia). Finalmente, el Capítulo 6 presentaremos una recopilación de los resultados y conclusiones obtenidas a lo largo del trabajo.



## 2

# Recopilación de registros electrofisiológicos

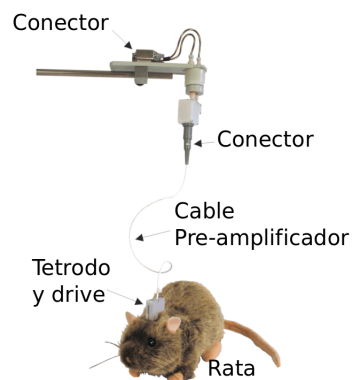
Existen múltiples técnicas, de carácter invasivo y no invasivo, para estudiar actividad eléctrica en el cerebro. Dependiendo del tipo de estudio que se desea realizar, de la escala espacial de interés, de la resolución temporal deseada o también del sujeto de investigación, se puede optar por alguna de las diferentes técnicas. Por ejemplo, en estudios comportamentales en primates o humanos, en general, se prioriza el uso de técnicas no invasivas como electroencefalografía (EEG) o resonancia magnética funcional (fMRI), mientras que en roedores es más común el uso de técnicas invasivas como la implantación quirúrgica de electrodos o microscopía con imágenes de calcio. En este trabajo se utilizarán datos correspondientes a registros invasivos tomados tanto en roedores como en humanos.

### 2.1. Registros con tetrodos en ratas

En este caso, los datos analizados provienen de una colaboración directa con el Dr. Emilio Kropff quien es el diseñador y principal involucrado en los experimentos (cirugías, elaboración de protocolos y desarrollo de experimentos). Esta colección de datos fue registrada entre los años 2010 y 2011 cuando el Dr. Kropff realizaba su estancia postdoctoral en el *Kavli Institute for Systems Neuroscience/ Centre for Neural Computation* dirigido por la *Dra. May-Britt Moser* y el *Dr. Edvard Moser* [10, 11, 17, 20].

En general, para realizar registros invasivos pueden utilizarse distintos tipos de electrodos de alta o baja impedancia (microelectrodos o macroelectrodos). Aumentar la cantidad de microelectrodos que se utilizan en una región en simultáneo permite registrar mayor cantidad de neuronas, por ejemplo utilizando tetrodos o microarreglos de múltiples electrodos. Un tetrodo consiste en un arreglo de 4 electrodos que se colocan

juntos para medir en una dada región cerebral. Los tetrodos utilizados en la recopilación de datos que serán analizados a lo largo de esta tesis consisten en cuatro alambres retorcidos de platino-iridio (90-10%) recubierto de poliimida de 17 mm (*California Fine Wire*), montados en grupos. Las puntas de los electrodos se patinan para reducir las impedancias.



**Figura 2.1: Tetrodos en ratas.** Ejemplo de una rata con un implante cerebral que permite desplazamiento. El implante se encuentra conectado al sistema de recolección de datos. (Imagen adaptada de *Thomas Recodings*:[www.thomasrecording.com](http://www.thomasrecording.com).)

Los tetrodos se implantan en los roedores a través de una cirugía que se realiza con el animal anestesiado. La cirugía se realiza en un marco estereotáxico que permite realizar los implantes en la zona de interés. Para cementar los tetrodos al cráneo se aplican tornillos de joyero y cemento dental, de manera que la rata tiene que moverse siempre con una especie de sombrero en su cabeza que evita que se toque o remueva los electrodos. La referencia se coloca en otra región del cerebro, y la actividad eléctrica se mide respecto a tal referencia. Para este experimento particular, los tetrodos se movían aproximadamente  $50\ \mu\text{m}$  en profundidad para buscar nuevas células.

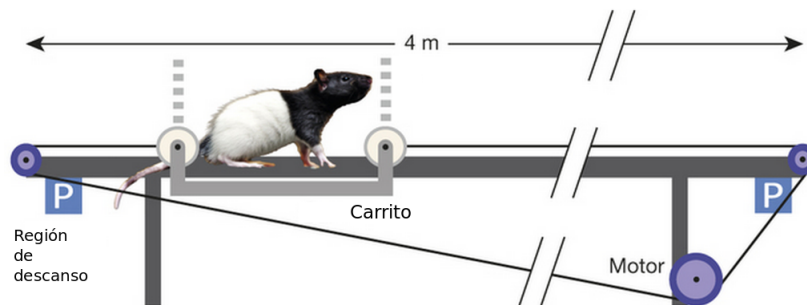
Cada electrodo registra actividad que incluye los disparos neuronales y la actividad extracelular. Los disparos neuronales se almacenan en un disco a 48 kHz y el potencial de campo local se registra con un único electrodo por tetrodo, filtrado hasta 500 Hz y registrado con una frecuencia de 4800 Hz. Luego de registrados los disparos, es necesario realizar un agrupamiento de disparos según pertenencia a distintas neuronas (*spike sorting*). Existen múltiples maneras de realizar un algoritmo de segmentación de disparos, en este caso el procedimiento de ordenado de los disparos neuronales se realiza utilizando un software gráfico para agrupamiento y cortado, y se separa de manera manual a partir de la proyección a las dos componentes principales de un patrón multidimensional de forma de onda de los disparos. Además se pueden agregar medidas como autocorrelación o correlación cruzada como criterios de separación si se conoce alguna particularidad de las características de los disparos neuronales.

## 2.2. Tarea comportamental: navegación espacial

Para estudiar la actividad durante el comportamiento, el animal se conecta a un equipo de registración utilizando un cable largo, que permite que el mismo pueda moverse libremente en el espacio. En simultáneo se utiliza un sistema de seguimiento (*tracking*) basado en la colocación de dos LEDs en la cabeza del animal y la utilización de una cámara infrarroja para detectar la posición y la dirección de la cabeza. De esta manera se obtienen la posición  $x$  e  $y$  en un entorno bidimensional y luego, velocidad y aceleración se obtienen a partir de las posiciones utilizando un filtro Kalman y un suavizante. El Dr. Kropff es quien realizó el preprocesamiento de datos que incluye el filtrado de señales comportamentales y el *spike sorting*.

Se registró a lo largo de experimentos repetidos la actividad eléctrica (LFP y actividad neuronal individual) en hipocampo (CA1 y CA3) y corteza entorrinal (capas II y III). Uno de los experimentos está diseñado de manera tal que la trayectoria y características cinemáticas del comportamiento del animal son siempre las mismas en un entorno unidimensional, y el otro experimento consiste en la libre navegación del animal en un entorno bidimensional.

En el primer experimento, los animales (rata Long Evans) se colocan en un carrito sin fondo en un trayecto lineal de 4m de longitud. La velocidad del carrito (al igual que su posición y dirección) es controlada por una computadora [20]. Dado que el carrito no tiene fondo, el animal tiene que involucrarse de manera activa en la locomoción. La participación activa de la rata es fundamental para que las células hipocampales desarrollen la actividad de localización ya conocida. Es decir, si la rata es simplemente trasladada pasivamente de un lugar a otro las células de lugar no desarrollan actividad espacial localizada.

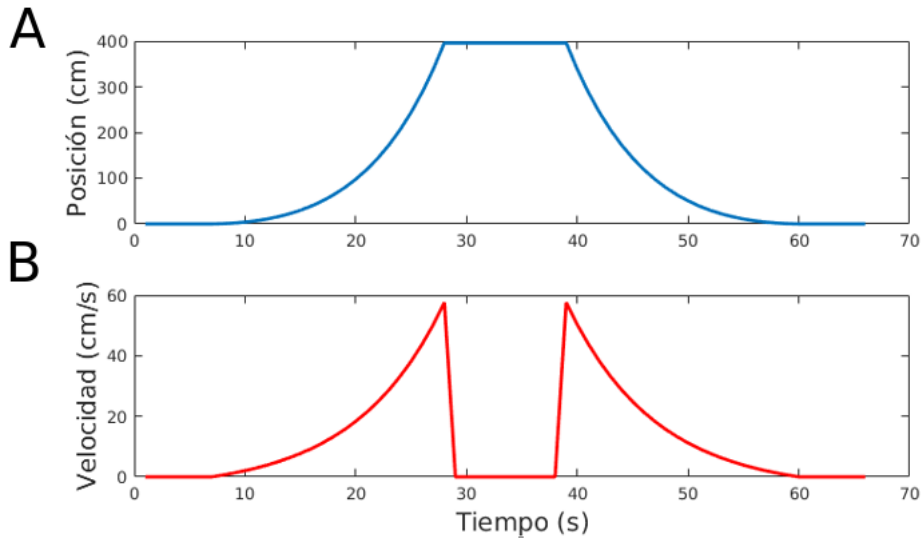


**Figura 2.2: Protocolo de carrito.** Ilustración de una rata sobre un carrito que atraviesa un riel, y la velocidad es impuesta tiempo a tiempo por una computadora. Imagen adaptada de *Speed cells in the medial entorhinal cortex* [20].

El protocolo de navegación consiste en tres etapas comportamentalmente diferentes: período de espera, período expectante y período de actividad, donde cada rata tiene un perfil de actividad diferente. El período expectante es equivalente en todos los protocolos; al empezar el experimento suena una alarma incremental durante 6 segundos

indicando el comienzo de la próxima corrida. Luego de la alarma, el carrito comienza a moverse. Se utilizan tres protocolos de movimiento diferentes en el carrito (y lo realizan ratas diferentes).

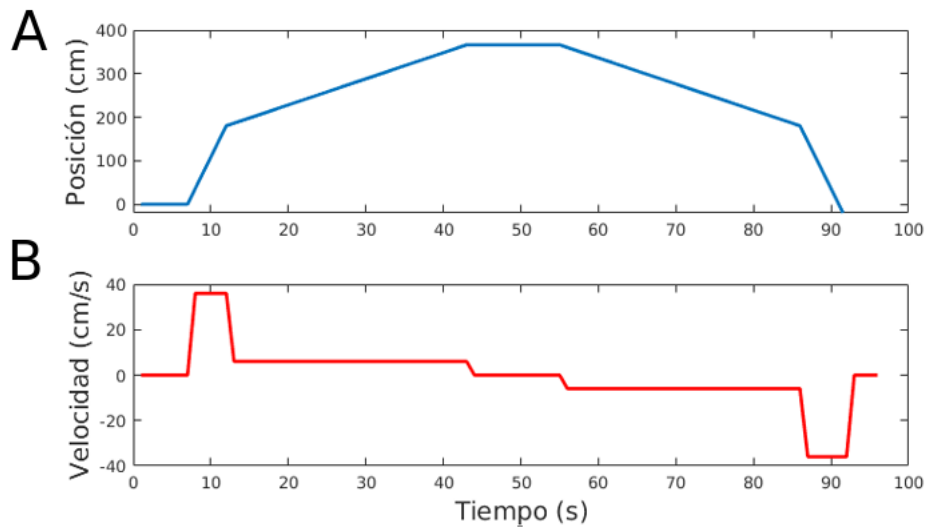
En el primer protocolo el perfil de velocidad  $v(t)$  es exponencial en el tiempo transcurrido en el trayecto ( $t^*$ ), es decir,  $v_d(t^*) = 4,5 \text{ cm/s } e^{\lambda_d t^*} - 4,5 \text{ cm/s}$  cuando la rata se mueve hacia la derecha hasta llegar al final del trayecto, donde el carrito se detiene y la rata recibe una recompensa. En este momento el animal se da vuelta en 180 grados, y comienza el regreso con velocidad  $v_i(t^*) = 54 \text{ cm/s } + 4,5 \text{ cm/s } e^{-\lambda_i t^*}$  (movimiento hacia la izquierda). En este protocolo  $\lambda_i = \lambda_d = 1/8 \text{ 1/s}$ . Llamaremos a este protocolo *protocolo exponencial*. La Figura 2.3 ilustra cualitativamente la tarea comportamental en posición y velocidad.



**Figura 2.3: Tarea comportamental.** (A,B) Posición y velocidad como función del tiempo. El período de descanso entre la ida y la vuelta no se representa en el gráfico porque tiene duraciones variables entre distintas repeticiones. Durante dicho intervalo, la rata recibe una recompensa, y luego se la da vuelta para continuar la tarea.

En el segundo protocolo el carrito comienza a moverse hacia la derecha a una velocidad de 36cm/s. A mitad de camino, el carrito disminuye su velocidad a 6cm/s hasta que llega al final del trayecto, donde recibe una recompensa. En el trayecto de regreso el comienzo se anuncia nuevamente con una alarma de 6 segundos, luego de la cual comienza a correr a una velocidad de 6cm/s, por aproximadamente 30s hasta alcanzar la mitad del trayecto. En este punto, el carrito es acelerado a 36cm/s hasta llegar a la posición inicial. La Figura 2.4 ilustra cualitativamente la tarea comportamental. De aquí en más llamaremos a este protocolo *protocolo cuadrado*.

De manera más general, la variable tiempo ( $t$ ) hará referencia al momento en la trayectoria del animal, iniciándose 1s antes de que suene la alarma y culminando 4s después de llegar al final del trayecto de 4m. El tiempo continúa en el trayecto de regreso, iniciando 1s antes de que suena la alarma de regreso y culmina 4s después de



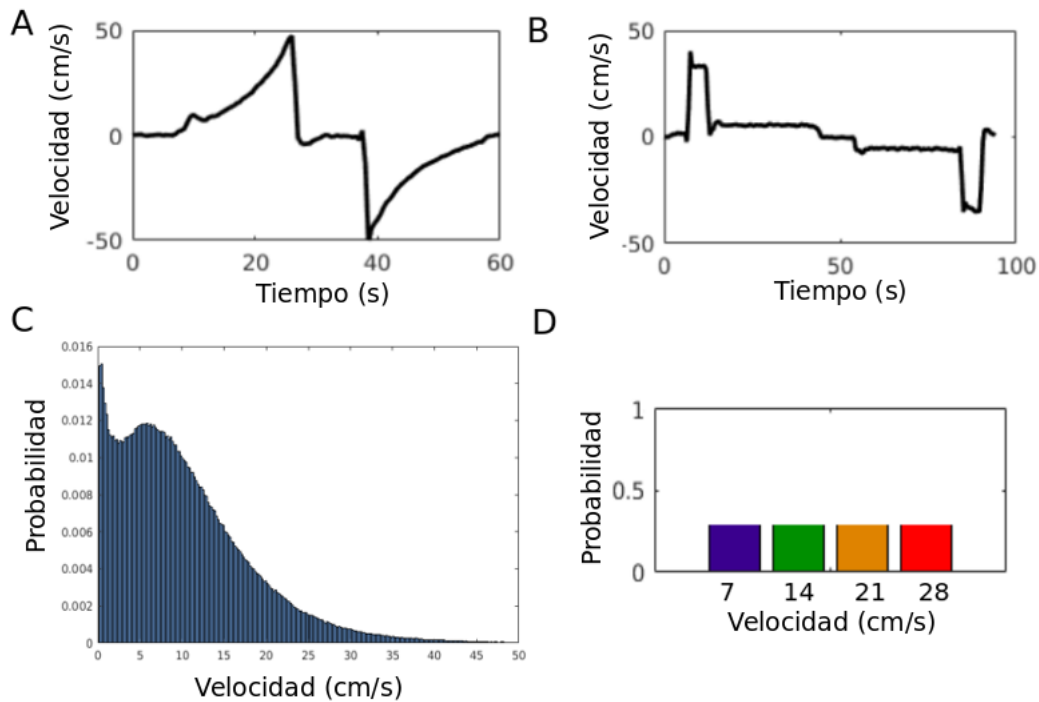
**Figura 2.4: Tarea comportamental.** (A,B) Posición y velocidad como función del tiempo. El período de descanso entre la ida y la vuelta no se representa en el gráfico porque tiene duraciones variables entre distintas repeticiones. Durante dicho intervalo, la rata recibe una recompensa, y luego se la da vuelta para continuar la tarea.

que el animal llega al punto de inicio. En el protocolo cuadrado esto da como resultado una variable temporal entre 0 y 96s, y en el protocolo exponencial esto resulta en una variable temporal que va de 0 a 62s. Cada segundo queda caracterizado por un conjunto de variables cinemáticas que se repiten en todos los experimentos: posición, dirección y velocidad.

Estas ratas repiten el protocolo temporal entre 15 a 20 veces por día, y el experimento se realiza en múltiples días de registro. De todos estos registros se seleccionan aquellos que cumplen los criterios de calidad (Sec. 2.2.1).

En un tercer protocolo hay sólo cuatro velocidades posibles: 7cm/s, 14cm/s, 21cm/s y 28cm/s y la rata recorre tramos de 1m a una velocidad constante que se sortea al azar al comenzar cada metro con probabilidad uniforme entre las cuatro velocidades anteriores. A este último esquema lo llamaremos *protocolo aleatorio*. En el caso del protocolo aleatorio el análisis de datos se realiza tomando sólo los segmentos de señal en la región [100 – 300]cm del trayecto lineal (porque son aquellos que no se encuentran afectados por posibles efectos de comienzo y fin del trayecto), eliminando el segundo inmediato a la primera aceleración y el previo a la última (para eliminar efectos debidos a transitorios por los cambios de velocidad). Las ratas con protocolo aleatorio realizan el recorrido 20 veces por día de registro, durante múltiples días de registro.

Con estos tres protocolos puede realizarse una diferenciación entre protocolos que son aprendidos (deterministas) y protocolos que no pueden aprenderse (aleatorios). Se dispone de 2 ratas para los protocolos deterministas: una con protocolo exponencial (rata 14566), y una con protocolo cuadrado (rata 14570); y 4 ratas con el protocolo aleatorio (llamaremos 1,2,3 y 4 a las ratas 16262, 16347, 16456 y 16653, respectivamen-



**Figura 2.5: Protocolos de velocidad .**(A) Perfil de velocidad del protocolo exponencial calculado como la media efectiva que resulta de la medición de velocidad en todos los registros de la rata 14566. (B) Perfil de velocidad del protocolo cuadrado calculado como la media en la medición de velocidad de la rata 14570. (C) Distribuciones de velocidades para una rata en navegación libre. (D) Distribución de velocidades posibles para el protocolo aleatorio.

te).

Es importante considerar que el protocolo de velocidad controlada es muy artificial para representar el movimiento del animal. Por este motivo es necesario realizar un análisis en un protocolo más natural, como es el de navegación libre en 2D. Se incorpora entonces un cuarto protocolo de libre navegación en el cual la rata es libre para moverse en un entorno cuadrado de dimensiones  $1\text{m} \times 1\text{m}$ . Para este protocolo se utilizan las mismas ratas que son sometidas a los protocolos cuadrado y exponencial. Es importante destacar que en un protocolo de exploración libre la velocidad y aceleración son obtenidas como resultado de un filtro de la posición instantánea, por lo que su estimación es ruidosa, y en algunos casos, no está bien definida.

Las Figuras 2.5A y 2.5B muestran los perfiles de velocidad de los protocolos deterministas en el tiempo. La Figura 2.5C muestra un ejemplo de la distribución de velocidades (absolutas) a las que se mueve una rata en el protocolo de libre exploración (14570), y 2.5D muestra la distribución de velocidad para el protocolo aleatorio.

### 2.2.1. Selección del conjunto de datos

Para realizar el análisis de los datos se utilizan sólo aquellas sesiones en las cuales el LFP contienen un claro pico en la banda theta al computar la transformada rápida de

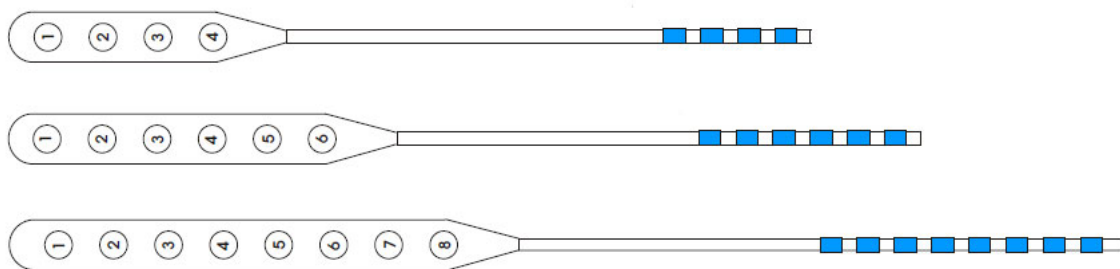
Fourier. Para esto se requiere que el valor del pico en la densidad de potencia espectral sea al menos el doble que cualquier otro máximo alrededor del pico mayor.

## 2.3. Electrodoos profundos en epilepsia

En pacientes epilépticos que no responden a tratamiento farmacológico (por ejemplo pacientes con EH) es posible realizar una cirugía para remover el foco epiléptico que da inicio a la crisis. Aquellos pacientes en los cuales no son claras las limitaciones del foco luego de realizar electroencefalografía (EEG) extracraneal, imágenes por resonancia (MRI) y de analizar la clínica del mismo, son sometidos a un procedimiento exploratorio con una técnica invasiva. Este proceso consiste en la implantación quirúrgica de electrodos en las zonas epileptógenas, y sensado durante un período de aproximadamente 10 días. Los objetivos de esta exploración son dos: por un lado detectar el foco de la crisis, y por otro lado delimitar el mismo para no afectar con la cirugía regiones no involucradas en la generación de la crisis y cuya remoción podría dificultar el normal desempeño del paciente luego de la operación.

### 2.3.1. Registros electrofisiológicos en pacientes epilépticos

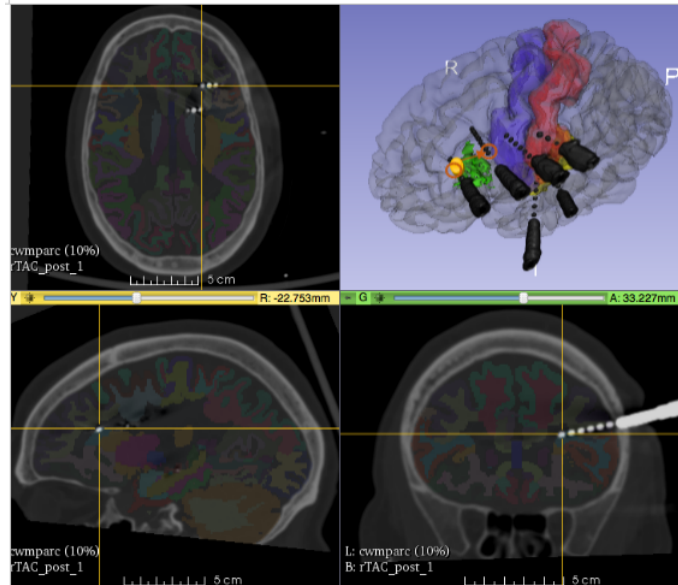
Los datos analizados provienen de una colaboración con médicos neurólogos del Hospital Ramos Mejía y Hospital el Cruce, particularmente con la Dra. Silvia Kochen y con la Dra. Nuria Cámpora. El conjunto de datos recolectados se corresponde con una totalidad de 33 crisis epilépticas de 5 pacientes (que serán llamados Paciente#).



**Figura 2.6: Ejemplo de electrodos profundos.** Electrodoos profundos con diferente cantidad de puntos de contacto (puntos de registro).

A cada paciente se le implantan quirúrgicamente 5 o 6 macroelectrodos (electrodos profundos), cada uno de los cuales tienen 9 puntos de contacto donde se realizan los registros de actividad eléctrica. Los puntos de contacto se enumeran del 1 al 9, donde el número indica la profundidad a la que se encuentra cada uno en el cerebro, siendo el número 9 el más profundo y el 1 el más superficial (como los que se muestran en la Figura 2.6).

Los pacientes permanecen en las instalaciones hospitalarias durante un período de entre 7 a 10 días con los electrodos implantados. La Figura 2.7 muestra un ejemplo de la localización de electrodos en uno de los pacientes.



**Figura 2.7: Electrodos profundos en pacientes hospitalarios.** Ejemplos de imágenes de resonancia magnética de electrodos profundos en un cerebro humano, y de su localización. Imagen proporcionada por médicos del *Hospital Ramos Mejía* y *Hospital el Cruce*.

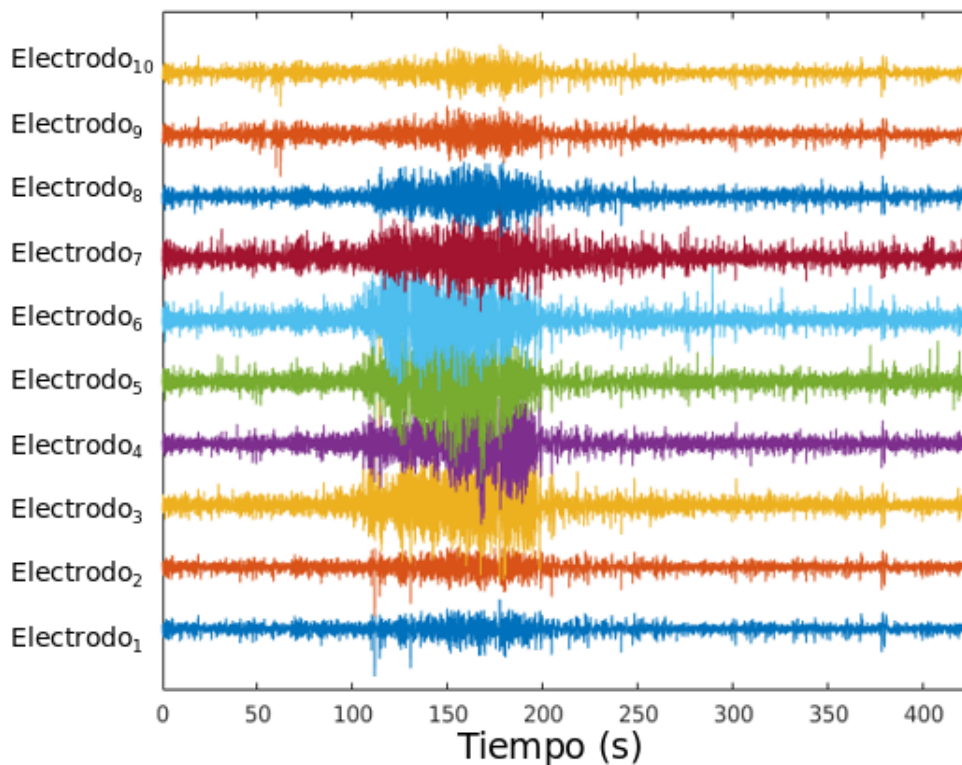
Durante el tiempo de internación se registra la actividad eléctrica en todos los puntos de contacto durante las 24 hs del día, incluyendo las crisis epilépticas. Acompañando al paciente durante la internación se encuentra el personal clínico que realiza distintas pruebas cognitivas durante las crisis. Estas pruebas cumplen un rol fundamental en el diagnóstico de la alteración de la conciencia del paciente. A su vez, se tiene registro visual de todo lo que ocurre: se filma al paciente durante todo el período de internación. Cuando el estudio culmina, los datos registrados (actividad eléctrica con electrodos profundos y videos correspondientes) quedan almacenados en una base de datos del hospital. La base de datos está armada de manera tal que pueden extraerse aquellos segmentos de interés de manera sincronizada entre los registros de actividad eléctrica y los videos correspondientes.

La actividad eléctrica que se analiza en esta tesis fue seleccionada por la Dra. Cámpora tomando segmentos temporales de 500 a 1000s, en los cuales siempre se incluye una crisis de algún paciente. De esta manera se tiene un total de 32 unidades de longitud variable que incluyen una única crisis correspondientes a 5 pacientes de diversas edades y sexo. Cada una de estas unidades esta compuesta por tanta cantidad de señales como puntos de contacto se encuentran implantados en el paciente. Esto resulta en un total de 1599 señales temporales correspondientes a las 32 crisis y a los diversos puntos de contacto. En el Apéndice A se presenta la nomenclatura y localización de cada uno de los puntos de contacto de los electrodos para los 5 pacientes



analizados (para cada paciente los macroelectrodos tienen una localización diferente). Junto con los registros electrofisiológicos se cuenta con la marca temporal, obtenida por inspección visual de un médico experto (Dra. Cámpora), de los tiempos de inicio y fin de crisis en aquellos puntos de contacto que están involucrados al comienzo de la misma. Del total se señales temporales sólo 109 son marcadas por la Dra. Cámpora como involucradas en el comienzo de la crisis.

El hospital cuenta con la totalidad de los datos obtenidos para cada paciente a lo largo de los días de registro, sin embargo a los fines del desarrollo de este trabajo la información necesaria se encuentra entorno a la crisis. Cabe mencionar además que trabajar con la totalidad de los registros en simultáneo requiere mucha memoria de sistema. La Figura 2.8 muestra el ejemplo de 10 puntos de contacto correspondientes a una de las extracciones. Visualmente se evidencia que la crisis tiene comienzo en algunos electrodos, donde la actividad eléctrica cambia con mayor intensidad (electrodos 7 y 6) y pasados algunos segundos, se incorporan al período ictal otros electrodos (1,2,8 y 9 de la misma figura). Las crisis tienen duración variable. La Figura 5.1 muestra el histograma de duraciones de las 32 crisis disponibles.



**Figura 2.8:** Ejemplo de actividad eléctrica en contactos de macroelectrodos. Se muestra la actividad eléctrica registrada en diez puntos de contacto de macroelectrodos implantados en un paciente epiléptico incluyendo el período pre-ictal (aproximadamente [0,100)s), período ictal ([100,200)s) y post-ictal (de 200s en adelante).

Una vez obtenidos los segmentos temporales, todos los datos (ictales e inter-ictales)

correspondientes a un mismo punto de contacto de un macroelectrodo se concatenan para mejorar las estimaciones de las propiedades estadísticas de la actividad en cada uno. Este último punto resulta válido ya que originalmente todos estos datos provienen de un único registro que fue fragmentado por los médicos a fines de extraer principalmente las regiones vinculadas al desarrollo de las crisis epilépticas, y de compartir los datos sin usar tanta memoria.

### 3

## Codificación neuronal en navegación espacial

Las neuronas del sistema hipocampal son selectivas al estado cinemático en ratas. En los estudios originales [7, 9], la selectividad se describía construyendo mapas de disparos de neuronas individuales, esto es, describiendo la dependencia de la tasa de disparos como función de la posición del animal. Estas representaciones permiten estimar la cantidad de información espacial codificada [35]. Los mapas de disparos constituyen la generalización en dos dimensiones de las curvas de selectividad (*tuning curves*) empleadas en los dominios sensoriales [36].

Las curvas de selectividad muestran cómo la tasa media de disparos, promediada en cierta ventana temporal o también en múltiples repeticiones del experimento, depende del estímulo. Sin embargo, el código neuronal puede involucrar también a otras propiedades estadísticas de la distribución conjunta entre estímulo y respuesta, más allá de la media [37]. Si, por ejemplo, la varianza de la tasa de disparos estuviese también modulada por la posición, las curvas de selectividad no capturarían la totalidad de la información codificada en las respuestas. La información mutua de Shannon definida como la divergencia de Kullback-Leibler entre la distribución conjunta entre estímulos y respuestas y el producto de las distribuciones marginales es la herramienta más general para analizar todos los posibles mecanismos de codificación, dado que no requiere ninguna suposición respecto de la naturaleza del mapeo probabilístico [38].

La elección del conjunto de estímulos y respuestas entre los cuales calcular la información es un punto problemático. En el dominio sensorial, la elección se resuelve típicamente utilizando dos estrategias diferentes. La estrategia clásica consiste en seleccionar un conjunto de estímulos estereotipados utilizando un criterio heurístico, y presentarlos repetidamente al sujeto mientras se registra la respuesta neuronal en un área particular del cerebro. Para aplicar esta estrategia, es necesario saber de antemano cuál es el conjunto de estímulos que son adecuados para probar el área de estudio. Por

ejemplo, al examinar la corteza visual usualmente los gradientes de contraste, orientación y frecuencia espacial se consideran adecuados; en la corteza ífero-temporal se suelen utilizar caras, manos, o herramientas; en el lóbulo temporal en roedores realizando tareas de navegación espacial, la posición, dirección de cabeza o dirección de movimiento del animal son tomadas como estímulo. Por supuesto, puede darse el caso que por probar un área con el estímulo erróneo los verdaderos portadores de información no sean detectados. De hecho, la identificación de los estímulos relevantes tuvo muchas veces una cierta dosis de suerte, como por ejemplo, el descubrimiento de las células selectivas a orientación en V1 [39], de neuronas selectivas a manos o caras en IT [40], y células de lugar en CA1 [41]. Uno se pregunta en consecuencia si podrían encontrarse estímulos más apropiados que los que se utilizan tradicionalmente simplemente probando una mayor cantidad de alternativas.

La segunda estrategia resuelve la arbitrariedad en la selección del estímulo. Si el ensamble del cual el estímulo es muestreado es similar al entorno natural, tarde o temprano aparecerán las características relevantes [42, 43]. Esta estrategia ha permitido el descubrimiento de características relevantes de los estímulos que no se habían evidenciado utilizando la estrategia clásica, como por ejemplo, los múltiples subcampos en el área V1 de macacos [44], o la deflexión correlacionada de múltiples bigotes en la corteza barril [45]. La formulación de teoría de la información de esta estrategia fue provista por Strong et al. en 1998 [46]. Los estímulos eran considerados procesos estocásticos que evolucionaban en el tiempo, y el código era caracterizado por la tasa de información, esto es, la información mutua por unidad de tiempo entre una serie de respuestas y el conjunto de todos los estímulos contenidos en la señal de entrada. Desde un punto de vista operacional, cada tiempo puede asociarse con una historia de estímulos específica. La información mutua entre estímulo y respuestas cuantifica la diferencia entre la distribución de respuestas condicionadas a un dado punto en el tiempo, y las distribuciones de respuestas marginadas en el tiempo. Para calcular esta información, el animal debe ser expuesto a exactamente la misma secuencia de estímulos en repetidas realizaciones del experimento. El atractivo de este método es que no realiza suposición alguna sobre la naturaleza del estímulo al cual la respuesta es selectiva, tampoco acerca de si dicha selectividad se encuentra codificada en la media o en la varianza de la distribución de respuestas. El único problema es que de esta manera se cuantifica la selectividad pero los aspectos informativos fundamentales permanecen desconocidos.

En un intento por desarrollar técnicas de análisis de datos que sean lo menos sesgadas posibles con respecto a los candidatos a estímulos relevantes, así como también las características de la respuesta que median el código, se adaptó la estrategia para el caso específico de variables cinemáticas codificadas en el lóbulo temporal. Este sistema es complicado, porque exponer al animal a una rica cantidad de estímulos requiere que

se involucre con la actividad locomotora, explorando diferentes lugares y estados del movimiento con un protocolo repetitivo.

Para lograr este objetivo, en este trabajo se analizaron registros electrofisiológicos obtenidos en animales que repetían la misma trayectoria espacial, con un protocolo de velocidad fijo que permitió comparar la distribución de probabilidad de posibles respuestas condicionada a un punto a lo largo de la trayectoria, con la distribución marginal. De esta manera se cuantificó cuándo un punto en la trayectoria produce una respuesta distintiva, independientemente de si el punto puede asociarse a características cinemáticas específicas como posición, velocidad o dirección de movimiento. La información así obtenida se comparó con la información mutua entre la variable cinemática tradicional y las respuestas neuronales. En concordancia con otros trabajos con otras técnicas de análisis de datos [47, 48], se demostró que las descripciones tradicionales del código neuronal sólo capturan una fracción limitada del repertorio de rasgos cinemáticos que son codificados.

El análisis mediante la información mutua de Shannon permite analizar múltiples portadores de información en el código neuronal, entre ellos: la tasa de disparos, la fase del potencial de campo local en el momento del disparo filtrado en la banda *theta* o del potencial de campo local filtrado en la banda *delta*, dado que tanto corteza entorrinal como hipocampo poseen potencia significativa en ambas bandas. También se puede establecer en qué grado estos códigos se superponen y coinciden como mecanismos de codificación en una misma célula o si se encuentran segregados en diferentes poblaciones. Este análisis permite cuantificar la sinergia o redundancia entre pares de atributos cinemáticos o entre pares de variables de respuesta (en particular en grupos de múltiples neuronas).

En comparación con los estudios previos que se hicieron sobre el código neuronal en el lóbulo temporal, el material de este capítulo es innovador en los siguientes aspectos:

- Se calcula información cinemática con un protocolo experimental perfectamente controlado.
- El protocolo experimental permite que, por primera vez, se estime la información cinemática con la segunda estrategia descrita anteriormente.
- Se analiza la información en un código de fase con el LFP filtrado en la banda *delta*.
- Las herramientas utilizadas permiten, por primera vez, analizar en qué medida los códigos neuronales codifican distintos aspectos cinemáticos (como posición, velocidad, dirección, etc.) de manera sinérgica o redundante.
- Se analiza la sinergia o redundancia en la codificación de variables cinemáticas por grupos de neuronas.

- Por primera vez se analiza en qué medida los distintos códigos neuronales (tasa o fase) coinciden en las mismas neuronas u operan en poblaciones disjuntas.

### 3.1. Materiales y métodos

Durante su estadía postdoctoral, el Dr. Emilio Kropff entrenó a una rata para correr a lo largo del trayecto lineal de 4m presentado en el Capítulo 2, dentro de un carrito sin fondo, donde la posición y velocidad es controlada por una computadora. A lo largo de este capítulo se analizarán los datos correspondientes a la rata 14570 que realiza la tarea experimental en el *protocolo cuadrado*. Se registraron múltiples repeticiones del experimento, con condiciones cinemáticas idénticas. La selección de registros da como resultado, en este caso, 220 neuronas en H (de 649), y 1186 en CE (de 1249).

El estado cinemático del animal queda determinado al especificar un dado tiempo a lo largo de la trayectoria. La actividad neuronal puede estar modulada por variables cinemáticas tradicionales como la posición, la velocidad, la dirección de movimiento, o combinaciones de ellas. Pero además, al menos en principio, existe la posibilidad de que la respuesta neuronal esté modulada por eventos específicos que suceden en puntos determinados de la trayectoria, que no se corresponden con una variable cinemática tradicional, como ser, una incomodidad que produce el cable atado a la cabeza del animal, o la expectativa de la recompensa que recibirá al llegar al final del trayecto.

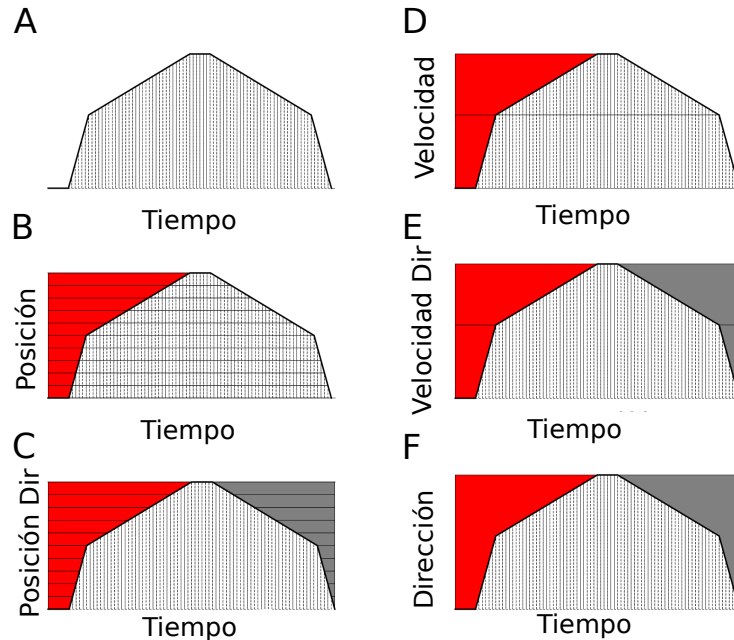
Para determinar cuánto la información codificada en la variable Tiempo se corresponde con variables cinemáticas tradicionales, se introducen las variables Posición, Velocidad, Dirección, Posición Direccionada y Velocidad Direccionada mediante la agrupación adecuada de diferentes segmentos temporales.

#### 3.1.1. Representación de las variables cinemáticas

Para estimar la cantidad de información que los diferentes rasgos de la actividad neuronal contienen acerca de posición, velocidad, dirección de movimiento o combinaciones de estas variables, es necesaria una representación de las variables cinemáticas. Para ello, cada trayecto se divide en 82 segmentos temporales (Figura 3.1A), cada uno de 1s. Esta segmentación define la variable temporal *Tiempo* (Figura 3.1A), y provee la descripción más completa del estado del animal, dado que las variables posición, dirección de movimiento y velocidad son todas funciones del tiempo.

La variable *Posición* especifica la localización espacial del animal (Figura 3.1B), y se obtiene al dividir el recorrido de la rata en 12 segmentos, dos de los cuales corresponden a la localización del carrito en el comienzo y final del trayecto mientras suena la alarma. Cinco segmentos de posición son asignados al trayecto donde la rata corre rápido, cada uno correspondiente a 5s. Otros seis segmentos de posición son asignados en el trayecto

de velocidad lenta, cada uno asociado con la posición de la rata en cada segundo mientras corre a 36 cm/s. Los segmentos de posición mientras la rata corre son todos de igual longitud, pero corresponden a intervalos temporales de diferente duración. Dado que la velocidad de la rata varía en el trayecto, los segmentos de posición en el trayecto lento son asociados a segmentos temporales 6 veces más largos que los de velocidad rápida. La distribución de probabilidad marginal de los segmentos de corrida lenta son entonces 6 veces más largos que los de velocidad rápida. Por otro lado, la variable *Posición Direccionada* (Figura 3.1C) asigna posiciones positivas a aquellas en las cuales la rata corre hacia la derecha (o preparándose para correr hacia la derecha), y posiciones negativas a aquellas en que la rata corre hacia la izquierda. La variable *Posición Direccionada* se corresponde con 22 segmentos que también son combinaciones de la variable tiempo. La variable *Dirección* de movimiento tiene 2 segmentos: izquierda y derecha (Figura 3.1D). Cuando el animal se encuentra en el comienzo del trayecto, la dirección es la del movimiento inminente. La variable *Velocidad* tiene 3 segmentos: rápido, lento y quieto (Figura 3.1E). La velocidad direccionada *Velocidad Direccionada* tiene 6 segmentos: quieto hacia la derecha, rápido hacia la derecha, lento hacia la derecha, quieto hacia la izquierda, lento hacia la izquierda y rápido hacia la izquierda (Figura 3.1F).



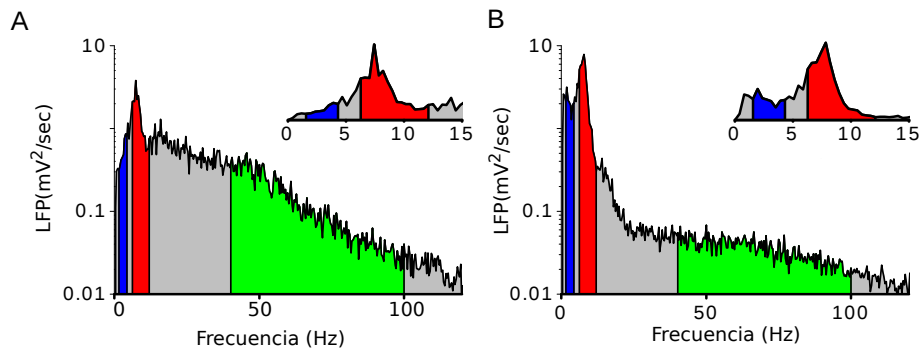
**Figura 3.1: Segmentación de las variables cinemáticas.** (A) Segmentos temporales. (B) Segmentos de posición en el eje vertical, como función del tiempo. (C) Segmentos de Velocidad Direccionada (eje vertical en la izquierda y derecha) como función del tiempo. (D) Dirección de movimiento, en el eje vertical derecho e izquierdo. Hay un segmento adicional para los períodos de alerta donde la rata tiene velocidad cero. (E) Segmentos de Velocidad, en el eje vertical izquierdo. También hay un segmento de velocidad cero no representado. (F) Segmentos de Velocidad Direccionada en los ejes verticales derecho e izquierdo. Además hay un segmento de velocidad cero no representado.

### 3.1.2. Cantidad de energía espectral en las diferentes bandas de frecuencia del potencial de campo local

El potencial de campo local se filtra en las bandas *theta* (6–12 Hz) y *delta* (1.5–4 Hz). El filtro consiste en (a) aplicar una transformada de Fourier rápida del potencial de campo local, (b) asignar amplitud 0 a los segmentos de frecuencia que se encuentran fuera de la banda deseada, y (c) antitransformar los resultados hacia el dominio temporal. Para entender también si existen fenómenos que se correlacionan con la señal de fase, el filtrado en bandas se acompaña de una transformada de Hilbert que resulta en una señal compleja de cuyo valor absoluto y ángulo se obtienen la envolvente de la señal como función del tiempo y la fase tiempo a tiempo.

El código de fases es posible solamente para bandas con energía significativa en el potencial de campo local. La Figura 3.2 se muestra la densidad espectral de frecuencia en corteza entorrinal e hipocampo para mostrar cuáles son las bandas de frecuencia con potencia significativamente diferente de cero.

En ambas áreas el espectro contienen un máximo marcado en la banda *theta* (Figura 3.2) y, aunque menos marcado, se observa un pico en la banda *delta* en corteza entorrinal que contiene entre un tercio y la mitad de la energía contenida en la banda *theta*. En el hipocampo, las oscilaciones lentas no dan lugar a un pico, sin embargo, la potencia en la banda *delta* es significativa. Además el primer armónico de la banda *theta* da lugar a un pico adicional con máximo alrededor de los 16Hz, luego del cual el espectro decae monótonamente.



**Figura 3.2:** Densidad de potencia espectral del potencial de campo local. (A) Hipocampo (B) Corteza entorrinal. Se utiliza escala logarítmica en el eje  $y$  de las figuras principales, y escalas lineales para las subfiguras. Banda delta: 1.5–4 Hz. Banda theta: 6–12 Hz. Banda gamma: 60–100 Hz.

### 3.1.3. Estadística circular

La fase del potencial de campo local es una variable circular, definida en el intervalo  $(-\pi, \pi)$ . La media  $\langle \phi \rangle$  y la varianza  $\sigma_\phi^2$  de un conjunto de ángulos  $\alpha_i$  con  $1 \leq i \leq n$  es



$$\langle \phi \rangle = \text{Arc Tan}(S/C) \quad (3.1)$$

$$\sigma_\phi^2 = 1 - \sqrt{S^2 + C^2}, \quad (3.2)$$

donde  $S$  y  $C$  son los valores medios de seno y coseno, respectivamente[49]

$$S = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \sin \alpha_i,$$

$$C = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \cos \alpha_i.$$

La varianza circular está definida entre 0 y 1. Cuando todos los ángulos  $\alpha_i$  coinciden, la varianza circular se anula y, cuando están distribuidos uniformemente en el círculo, alcanza su máximo valor. Sin embargo, cuando hay poca cantidad de muestras, la varianza difícilmente vale 1. Por ejemplo, si se toman datos de una distribución homogénea, es altamente improbable obtener ángulos equitativamente distribuidos en  $(-\pi, \pi)$ . De esta manera, la varianza que se obtiene de una distribución homogénea es típicamente menor a 1. La varianza circular se encuentra de hecho sesgada de manera negativa, en promedio el valor obtenido para un conjunto finito de datos es más chico que el de la distribución real subyacente. Por esto, es importante determinar si la varianza circular estimada de un pequeño conjunto de datos proveen evidencia suficiente para asegurar que la distribución subyacente es inhomogénea o sí, por el contrario ese valor podría haberse obtenido de una distribución homogénea. Para realizar el análisis de significancia se asume como hipótesis nula que la distribución subyacente es uniforme. Se comparan el valor experimental con las varianzas circulares obtenidos bajo la hipótesis nula, cuando se muestrea la misma cantidad de veces que los datos reales. Si la varianza circular real es menor al 99% de los valores obtenidos de la distribución uniforme, el valor medido es considerado significativo y, la distribución subyacente, no uniforme.

#### 3.1.4. Estimación de la información codificada

La cantidad de información que una variable fisiológica  $Y$  (como tasa de disparos, o fase con respecto al potencial de campo local filtrado) y una variable cinemática  $X$  (como Tiempo, Posición, Dirección, etc) se puede computar utilizando la información mutua de Shannon [50, 51]:

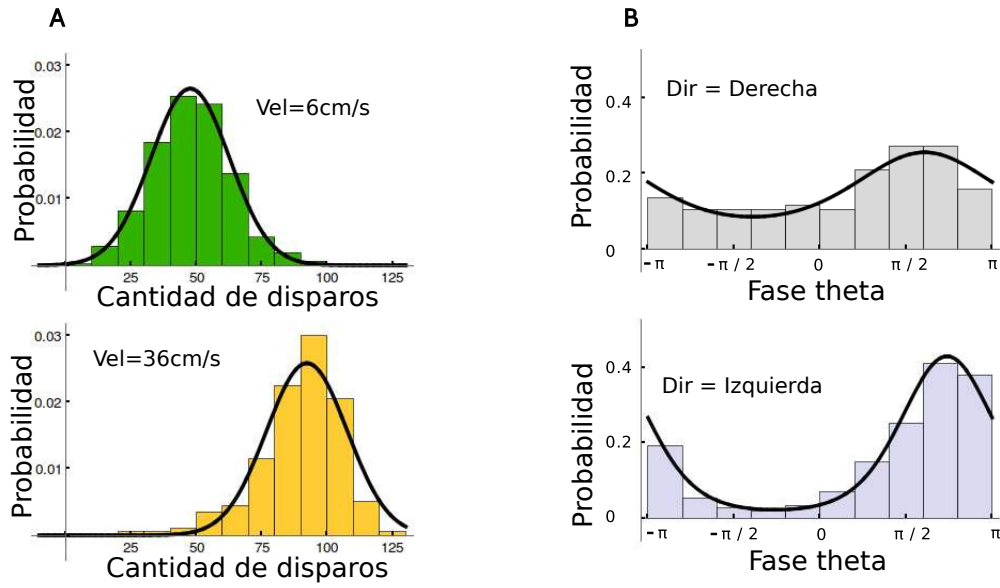
$$I(X; Y) = \sum_x P(x) \int P(y|x) \log_2 \left[ \frac{P(y|x)}{P(y)} \right] dy,$$

donde  $P(x)$  es proporcional a la cantidad de tiempo que el animal transcurre en la variable cinemática  $X = x$ . En otras palabras, si cada repetición tiene duración  $T_{\text{trial}}$ , y en cada una el animal pasa una cantidad de tiempo  $T_x$  con  $X = x$ , entonces  $P(x) = T_x/T_{\text{trial}}$ . Luego  $P(y|x)$  es la probabilidad de que la variable fisiológica  $Y$  tome un valor  $y$  condicionada a la variable comportamental  $X = x$ . En lo que sigue se llama  $r$  a la tasa de disparos y  $\phi$  a la fase, y serán las variables con las cuales se calcula la información cinemática.

El número de repeticiones con los electrodos en la misma posición es de 15 a 25 experimentos. Sin información adicional, la poca cantidad de repeticiones elimina la posibilidad de estimar confiablemente la distribución  $P(y|x)$ . Para resolver este problema, puede asumirse que la distribución  $P(r|\text{Tiempo})$  puede aproximarse por una distribución Gaussiana con media y varianza obtenida de los datos experimentales. En los códigos de fase respecto al potencial de campo,  $P(\phi|\text{Tiempo})$  puede modelarse con una distribución Von Mises con media y varianza circular extraídos de los datos. Estas suposiciones se basan en la observación empírica de los histogramas que muestran distribuciones unimodales de las cuales puede estimarse razonablemente la media y el ancho de distribución (como se muestra en la Figura 3.3).

El caso de tasa de disparos puede también ajustarse con una distribución de Poisson (en lugar de una Gaussiana). Sin embargo este ajuste diferente produce modificaciones menores en los valores de información obtenidos. Además el modelo gaussiano tiene la ventaja de ser fácilmente extensible al caso bivariado para evaluar la información codificada por pares de neuronas registradas en simultáneo. En este caso, la distribución  $P(r_1, r_2|\text{Tiempo})$  se modela con una distribución Gaussiana de dos dimensiones, que sólo requiere la estimación adicional del coeficiente de correlación entre las tasas de disparo  $r_1$  y  $r_2$  de las dos neuronas para cada segmento temporal. La parametrización de la distribución de probabilidad condicional de la respuesta dado un estímulo con modelos específicos ha sido estudiada en otros contextos utilizando medidas basadas en la información de Fisher (por ejemplo en [52, 53] donde usan un modelo gaussiano multivariado), y algunas veces también utilizando medidas de información mutua de Shannon (como por ejemplo en [35] donde emplean un modelo binario o en [54] donde utilizan un modelo gaussiano).

El ajuste Gaussiano de la distribución de probabilidad  $P(r|\text{Tiempo} = t)$  de la tasa de disparos  $r$  condicionada al segmento temporal  $\text{Tiempo} = t$  se calcula a partir de la estimación de la media de la cantidad de disparos neuronales y su varianza correspondiente en cada intervalo temporal  $t$ . Si el número de disparos es menor a 10 (considerando todas las repeticiones) o el número de repeticiones que contienen disparos es menor a 5, la varianza se toma como el mínimo valor de las varianzas correspondientes a  $\text{Tiempo} \neq t$ . Esta elección asegura estimaciones de información conservadoras, ya que las varianzas obtenidas con pocas muestras no son confiables.



**Figura 3.3: Modelado de las distribuciones condicionadas de tasa de disparos y fase.** Comparación entre el histograma medido de las respuestas neuronales y sus correspondientes ajustes para dos ejemplos de mecanismos de codificación neuronal. **(A)** Tasa de disparos obtenidas de una neurona de corteza entorrinal para dos velocidades diferentes (los ejes verticales tienen diferente escala). Las dos velocidades muestran dos tasas de disparos medias marcadamente diferentes. **(B)** Fase de disparo de una neurona entorrinal con respecto al potencial de campo filtrado en la banda *theta* para dos direcciones de corrida diferentes. Las dos direcciones dan lugar a dos distribuciones con ancho significativamente diferente.

Para calcular la probabilidad  $P(r|S = s)$  de la tasa de disparos  $r$  condicionada a la característica cinemática  $S$ , se marginaliza sobre todos los ajustes gaussianos de las distribuciones  $P(r|\text{Tiempo} = t)$  en los segmentos temporales  $t$  compatibles con la condición  $S = s$ . De esta manera la distribución  $P(r|S = s)$  es típicamente no gaussiana. Con esta definición de  $P(r|S = s)$ , se asegura la validez del teorema de procesamiento de datos que establece que, al ser  $s$  función de Tiempo, entonces  $I(R; \text{Tiempo}) \geq I(R; S)$ .

Para estimar la información codificada en la tasa de disparos de pares de neuronas registradas en simultáneo, la distribución de probabilidad condicional  $P(r_1, r_2|\text{Tiempo})$  se modela como una Gaussiana bivariada caracterizada por las medias  $\langle r_1 \rangle$  y  $\langle r_2 \rangle$ , varianzas  $\sigma_1^2$  y  $\sigma_2^2$  y coeficiente de correlación  $\rho$ . Para asegurar una estimación confiable de  $\rho$ , si el número de disparos en un segmento temporal es menor a 20 (considerando todos las repeticiones), o el número de repeticiones que contienen disparos para cada neurona es menor a 5, se toma  $\rho = 0$ . Marginando  $P(r_1, r_2|\text{Tiempo})$  en la variable tiempo, y respetando  $r_1$  y  $r_2$  fijos, se obtiene la distribución de probabilidad  $P(r_1, r_2)$  que se utiliza para estimar la información  $I(R_1; R_2)$  entre tasa de disparos.

El ajuste de von Mises de la distribución de probabilidad  $P(\phi|\text{Tiempo} = t)$  de las fases de disparo  $\phi$  condicionada al segmento temporal  $\text{Tiempo} = t$  se calcula estimando la media y varianza circular de las fases de disparo obtenidas para cada segmento temporal. Si en cada segmento hay menos de 10 disparos, o menos de 5 registros que

contengan disparos, el segmento  $\text{Tiempo} = t$  se descarta de la lista de segmentos temporales asignándole probabilidad cero. Al igual que con la tasa de disparos, para calcular la distribución de probabilidad  $P(\phi|S = s)$  de la fase  $\phi$  condicionada a que la variable cinemática  $S$  tome el valor  $s$ , se marginan todas las distribuciones  $P(\phi|\text{Tiempo} = t)$  para los segmentos temporales  $t$  compatibles con  $S = s$ . De esta manera, la distribución  $P(\phi|S = s)$  es típicamente diferente a la Von Mises. Las distribuciones marginales  $p(r)$  y  $p(\phi)$  también pueden obtenerse mediante la marginalización de la distribución condicional  $p(r|t)$  y  $p(\phi|t)$ , respectivamente.

### 3.1.5. Significancia estadística en la medida de información

Los valores de información mutua obtenidos con un número limitado de muestras están sesgados positivamente [55–58]. Para decidir qué valores de información son significativos puede realizarse un test comparando los valores que se obtendrían con el mismo conjunto de datos (disparos) pero intercambiados en el tiempo. Para hacer esto de la manera más justa posible es necesario conservar las distribuciones de probabilidad marginales, simulando la situación en la que  $P(r|s) = P(r)$  y  $P(\phi|s) = P(\phi)$ . De esta manera se realizan 100 repeticiones independientes del cálculo, y los valores reales obtenidos se consideran significativos si son mayores al 99 % de los valores generados con disparos distribuidos al azar.

Para cada región del cerebro, y cada código neuronal, se determina la fracción de células que codifica cantidades de información significativas. Para decidir si las proporciones obtenidas para dos condiciones diferentes son significativamente diferentes o no, se calculan las fracciones que se obtendrían basada en la hipótesis nula de que ambas fracciones son iguales, y se estima la probabilidad de obtener fracciones que difieran entre sí tanto o más que la diferencia observada en los datos experimentales. Las fracciones se consideran significativamente diferentes entre sí en el caso en el que las diferencias experimentales son mayores al 99 % de las proporciones obtenidas bajo la hipótesis nula.

### 3.1.6. Grado de codificación conjunta de variables cinemáticas

Luego del análisis de significancia, en el espacio de estímulos, cada célula y cada código neuronal queda representado por un vector binario de seis componentes  $(S_t, S_p, S_d, S_s, S_{pd}, S_{sd})$  que se refieren a si una neurona codifica o no información significativa respecto a las variables de comportamiento Tiempo, Posición, Dirección, Velocidad, PosiciónDireccionada y Velocidad Direccionada, respectivamente. De esta manera,  $S_i$  toma valor 1 si la información es significativamente distinta de cero y 0 si no lo es.

En este punto es importante destacar que existe un conjunto de variables cinemáticas que, por el mismo diseño experimental, son independientes. Por ejemplo, Posición y Dirección o Velocidad y Dirección. Es decir,  $I(\text{Posición}; \text{Dirección}) = 0$  y  $I(\text{Velocidad}; \text{Dirección}) = 0$ , dado que para cada posición y cada velocidad, existen sólo dos posibles direcciones de movimiento, ambas con igual probabilidad. Sin embargo, a nivel general el resto de las variables se encuentran correlacionadas. Dichas correlaciones entre los atributos cinemáticos pueden inducir correlaciones en la codificación neuronal de los mismos.

Para verificar si las variables cinemáticas se encuentran codificadas de manera conjunta o independiente se construye la distribución de probabilidad  $P_S(s_t, s_p, s_d, s_s, s_{pd}, s_{sd})$ , a partir de la colección de vectores  $(S_t, S_p, S_d, S_s, S_{pd}, S_{sd})$  obtenidos para las distintas neuronas. Se compara esta distribución de probabilidad con la que se obtendría si las variables cinemáticas se codificasen de manera independiente. Esta hipótesis nula, es una suposición sobre codificación independiente de las variables, y no sobre la independencia de las variables propiamente dichas, resulta más relajada que aquella que considera a las variables como independientes. Sin embargo, al analizar los resultados es importante tener en cuenta que, como se mencionó anteriormente, las variables cinemáticas se encuentran correlacionadas.

La suposición de independencia en la codificación implica que  $P_{\text{random}}(s_t, s_p, s_d, s_s, s_{pd}, s_{sd}) = P_t(s_t)P_p(s_p)P_d(s_d)P_s(s_s)P_{pd}(s_{pd})P_{sd}(s_{sd})$ , donde  $P_{S_i}(s_i)$  se estima con la fracción de neuronas que cumple  $s_i = 1 \forall i$ . La diferencia entre la distribución de probabilidad  $P_S$  obtenida y el resultado independiente  $P_{\text{random}}$  se computa utilizando la Divergencia de Kullback-Leibler.

Condicionando la distribución de probabilidad  $P_S(s_t, s_p, s_d, s_s, s_{pd}, s_{sd})$  al conjunto dado por  $\sum_{i=1}^{n=6} s_i = m$ , donde  $m$  es el número de atributos codificados, se obtiene la probabilidad de que una célula contenga información sobre  $m$  variables cinemáticas en simultáneo  $P(m)$ . El análisis de variables cinemáticas individuales permite caracterizar las distribuciones con  $m = 1$ . Un análisis más detallado consiste en tomar variables cinemáticas de a pares,  $m = 2$ . El análisis con  $m = 2$  se realiza a partir del cómputo de los valores de información entre algunos pares de variables independientes.

Para decidir si las distribuciones conjuntas de probabilidad para la codificación de atributos del comportamiento son significativamente diferentes a las independientes se realiza un t-test entre los valores de divergencia de Kullback-Leibler (DKL) obtenidos y la hipótesis nula. La hipótesis nula corresponde a la distribución de divergencia de Kullback-Leibler entre dos realizaciones diferentes de  $P_{\text{random}}$ . Este punto es necesario ya que  $DKL > 0$ , por lo que la hipótesis nula no puede representarse por una gaussiana de media cero para la distribución de valores de DKL.

Cuando la variable cinemática o la respuesta neuronal (o ambas) se encuentra definida en término de dos componentes (o dos variables), es posible preguntarse si la

información codificada por el par (de estímulos o de respuestas) es igual, mayor o menor que la suma de las informaciones codificadas por cada variable por separado. Por ejemplo, la variable Velocidad Direccionada puede considerarse como un vector de dos dimensiones (Dirección, Velocidad), donde la componente Dirección puede tomar los valores  $\{1, -1\}$ , dependiendo si la dirección de movimiento de la cabeza de la rata es hacia la derecha o izquierda, y la componente Velocidad puede ser 0, 6 o 36 cm/s, dependiendo del valor absoluto de la velocidad de movimiento. Si la variable de respuesta  $Y$  representa la conjunción de Dirección y Velocidad, pero no a las mismas por separado, es esperable que  $I(\text{Velocidad Direccionada}; Y)$  sea mayor que  $I(\text{Dirección}; Y) + I(\text{Velocidad}; Y)$ . En este caso, Dirección y Velocidad se codifican de manera sinérgica. Si, en cambio, los dos aspectos se encuentran representados de manera independiente,  $I(\text{Velocidad Direccionada}; Y)$  debe ser aproximadamente igual a  $I(\text{Dirección}; Y) + I(\text{Velocidad}; Y)$ . Finalmente, si la codificación de la velocidad de movimiento se utiliza para inferir la dirección,  $I(\text{Velocidad Direccionada}; Y)$  debe ser menor que  $I(\text{Dirección}; Y) + I(\text{Velocidad}; Y)$ , y el código es redundante.

La cantidad de sinergia entre las dos variables cinemáticas  $X_1$  y  $X_2$  mediadas por la variable de respuesta  $Y$  se define como

$$S_k = I(X_1, X_2; Y) - I(X_1; Y) - I(X_2; Y), \quad (3.3)$$

$$= \langle I(X_1; X_2|Y) \rangle_Y - I(X_1; X_2), \quad (3.4)$$

donde el subíndice en  $S_k$  es para “sinergia en la variable cinemática”, y la igualdad entre ambas expresiones se demostró por Brenner [59].

### 3.1.7. Grado de coexistencia en neuronas cercanas en la codificación de variables cinemáticas

Se propone evaluar la coexistencia de neuronas que codifican distintos atributos cinemáticos en una misma región cerebral, y compararla con una distribución aleatoria (independiente) de codificación en la subpoblación. La estrategia que se describe es válida tanto para el código de tasas como para los códigos de fase. Se analizan  $(s_t, s_p, s_d, s_v, s_{pd}, s_{vd})$  para caracterizar la distribución de probabilidad de que múltiples neuronas registradas en simultáneo codifiquen a la vez algún atributo. Se quiere investigar cuáles propiedades de codificación simultánea de atributos cinemáticos coexisten en regiones cerebrales cercanas.

En [60] realizan un análisis en donde se compara la probabilidad conjunta de  $n$  neuronas disparando de manera simultánea con la distribución de probabilidad que se obtendría si las neuronas disparasen de manera independiente. En el experimento analizado se tiene del orden de 40 (de 20) neuronas registradas a la vez en CE (en

H). Por razones computacionales se escoge trabajar con un conjunto de  $n = 5$  células, donde todas las posibles formas de seleccionar  $n$  neuronas conforman el espacio de muestras. Tener en cuenta que, dado que el experimento se repite múltiples veces, la estadística es mucho mayor a simplemente tomar  $\binom{40}{5}$  (tomar  $\binom{20}{5}$ ). De esta manera, la muestra de datos puede representarse como una matriz con 5 filas  $\times \binom{40}{5}$  ( $\times \binom{20}{5}$ )  $\times$  cantidad de días que se realizó el experimento. El siguiente paso consiste en tomar  $k$  neuronas de dichas  $n = 5$  y calcular la probabilidad de que todas codifiquen un dado atributo. Asumiendo independencia, la probabilidad de que  $k$  neuronas codifiquen un atributo está dada por:

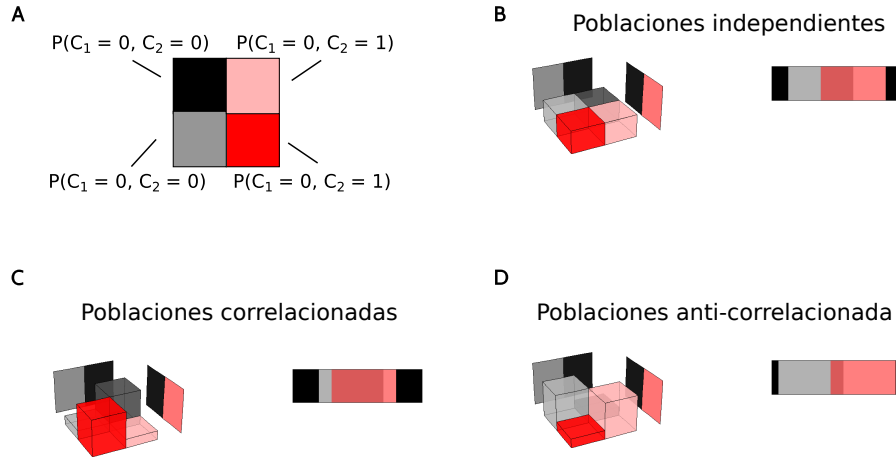
$$P_{b_{Si}}(k) = \binom{N}{k} P_{Si}^k (1 - P_{Si})^{(N-k)} \quad (3.5)$$

donde el subíndice  $b$  refiere a binomial, y  $P_{Si}$  se obtiene del análisis poblacional (la fracción de células que codifica con un determinado mecanismo una variable cinemática). Comparando la distribución binomial con la que se obtiene de los datos se decide si la codificación conjunta en regiones es o no independiente.

### 3.1.8. Múltiples mecanismos de codificación en neuronas individuales

Luego del análisis de significancia cada célula queda también representada por un vector binario de tres componentes ( $C_r, C_\theta, C_\delta$ ) que se refieren a si una neurona codifica o no información significativamente distinta de cero acerca de la variable Tiempo en el código de tasa de disparos, fase en *theta* o fase en *delta*, respectivamente. Para verificar si dos mecanismos de codificación tienden a co-ocurrir en una misma célula o, por el contrario, tienden a estar segregados en diferentes neuronas, se define la distribución de probabilidad conjunta  $P(c_r, c_\theta, c_\delta)$ , y la colección de células registradas constituyen una muestra de esta distribución. Condicionando esta distribución a la codificación mediante  $n$  mecanismos, se obtienen las probabilidades de co-ocurrencia de a pares o de a trios.

Por otro lado, marginando la distribución  $P(c_r, c_\theta, c_\delta)$  sobre uno de los códigos, se obtienen las distribuciones bivariadas  $P(c_r, c_\theta)$ ,  $P(c_\theta, c_\delta)$  y  $P(c_\delta, c_r)$ . En la Figura 3.4, se muestran las distribuciones que se obtendrían para el caso idealizado en donde existen dos códigos neuronales, cada uno de los cuales recluta a la mitad de las neuronas en la población, es decir, al marginalizar la distribución bivariada  $P(c_r, c_\theta)$  sobre alguno de los dos mecanismos, se obtiene  $P(c_r = 0) = 0,5, P(c_r = 1) = 0,5$ . El Panel B representa el caso en el cual ambos mecanismos de codificación son independientes, el C, cuando los códigos coexisten en una misma célula y el D cuando hay tendencia a que se segreguen en diferentes subpoblaciones de neuronas.



**Figura 3.4:** Ejemplos teóricos sobre pares de códigos con superposición variable en la población. (A) Convención cromática utilizada en los paneles (B–D). (B) Distribución de probabilidad conjunta (bloques) y sus correspondientes distribuciones marginales (planos) para el caso en que los dos códigos son independientes. (C) Códigos con tendencia a coexistir en el mismo grupo de neuronas. (D) Códigos con tendencia a estar segregados en distintos grupos de células.

Si la subpoblación de células que utilizan un mecanismo de codificación es independiente de la subpoblación que utiliza otro mecanismo de codificación, entonces conocer que una dada neurona tiene  $C_i = 1$  no puede utilizarse para predecir el valor de  $C_j$ , y viceversa. Esto se muestra gráficamente en la Figura 3.4B, donde  $P(c_i, c_j) = P(c_i)P(c_j)$ . Matemáticamente, esto significa que la información mutua  $I^b(C_i; C_j)$  entre  $C_i$  y  $C_j$  se anula, con

$$I^b(C_i; C_j) = \sum_{ab} P_{ij}(ab) \log_2 \left[ \frac{P_{ij}(ab)}{P_i(a) P_j(b)} \right], \quad (3.6)$$

donde la suma corre sobre todos los pares  $ab \in \{00, 01, 10, 11\}$ , y el superíndice en  $I^b$  se refiere a información “binaria”. Que la información mutua se anule implica que el conjunto de células que codifica información con uno de los mecanismos es independiente del conjunto asociado al otro mecanismo. Información positiva puede indicar que la co-ocurrencia de ambos mecanismos en una misma neurona es más frecuente que el caso aleatorio (Figura 3.4C), o alternatively, que si una célula utiliza un código, es poco probable que también utilice otro (Figura 3.4D). Para discernir entre estas dos situaciones, se calcula la correlación de a pares entre las variables  $C_r$ ,  $C_\theta$  y  $C_\delta$ . Un valor positivo del coeficiente de correlación de Pearson implica co-ocurrencia de los códigos, mientras que un valor negativo indica que los códigos tienden a segregarse en poblaciones disjuntas. El coeficiente de correlación de Pearson entre los códigos  $i$  y



$j$  se define como

$$\begin{aligned}
 c_{ij}^b &= \frac{\langle C_i C_j \rangle - \langle C_i \rangle \langle C_j \rangle}{\sqrt{(\langle C_i^2 \rangle - \langle C_i \rangle^2) (\langle C_j^2 \rangle - \langle C_j \rangle^2)}} \\
 &= \frac{P_{ij}(11) - P_i(1)P_j(1)}{\sqrt{P_i(1)[1 - P_i(1)] P_j(1)[1 - P_j(1)]}} \\
 &= \frac{P_{ij}(00) - P_i(0)P_j(0)}{\sqrt{P_i(1)[1 - P_i(1)] P_j(1)[1 - P_j(1)]}} \quad (3.7)
 \end{aligned}$$

donde el superíndice b se refiere a “binario”.

Además, para cada par de códigos  $(i, j)$ —esto es, para el par  $(i, j) = (r, \theta)$ , el par  $(i, j) = (\theta, \delta)$  y el par  $(i, j) = (\delta, r)$ —se seleccionan las células que contienen cantidad de información significativa sobre la variable Tiempo con ambos mecanismos de codificación, y con estos valores se calcula el coeficiente de correlación de Pearson entre  $I(\text{Tiempo}; i)$  e  $I(\text{Tiempo}; j)$ . Para cada par de mecanismos  $i/j$ , se ajusta  $I(\text{Tiempo}; j) = \alpha I(\text{Tiempo}; i) + \beta$ .

### 3.1.9. Codificación conjunta en pares de neuronas

Similar al caso en que se estudia la codificación de múltiples variable cinemáticas, cuando se consideran las respuestas de dos neuronas registradas en simultáneo con actividades  $Y_1$  e  $Y_2$ , la sinergia observada en la variable de codificación cinemática es

$$S_r = I(X; Y_1, Y_2) - I(X; Y_1) - I(X; Y_2), \quad (3.8)$$

$$= \langle I(Y_1; Y_2 | X) \rangle_X - I(Y_1; Y_2), \quad (3.9)$$

donde el subíndice en  $S_r$  se refiere a “sinergia en la respuesta”.

Estimar la información codificada de a pares de neuronas es una manera de tener acceso a la codificación conjunta de las variables cinemáticas por grupos de neuronas. Sin embargo, computar la información para grupos numerosos de neuronas se vuelve altamente complicado por tres motivos: (a) no es evidente cómo descomponer la información de tríos, cuartetos o grupos de mayor tamaño en término de las informaciones de a pares o individuales, (b) el cómputo requiere la estimación de una distribución de probabilidad conjunta en un espacio de alta dimensión, por lo que se necesita mayor cantidad de muestras, y (c) este cálculo es computacionalmente lento. Además, el cálculo propuesto para computar sinergia entre pares de neuronas con el código de tasa de disparos no puede implementarse para un código de fase por la indefinición de la fase en el caso de no tener disparos, y la necesidad de muestrear un espacio más grande con valores de fases.

Para estimar si el valor de sinergia es significativo, se mezclan los vectores de res-

puesta  $(r_1, r_2)$  50 veces, imitando la situación en la que la distribución de probabilidad condicional  $P(r_1, r_2 | \text{Tiempo})$  es igual a la marginal  $P(r_1, r_2)$ . Los valores de sinergia son considerados significativos si el número obtenido con datos reales es mayor al 99 % de los que resultan de mezclar los datos.

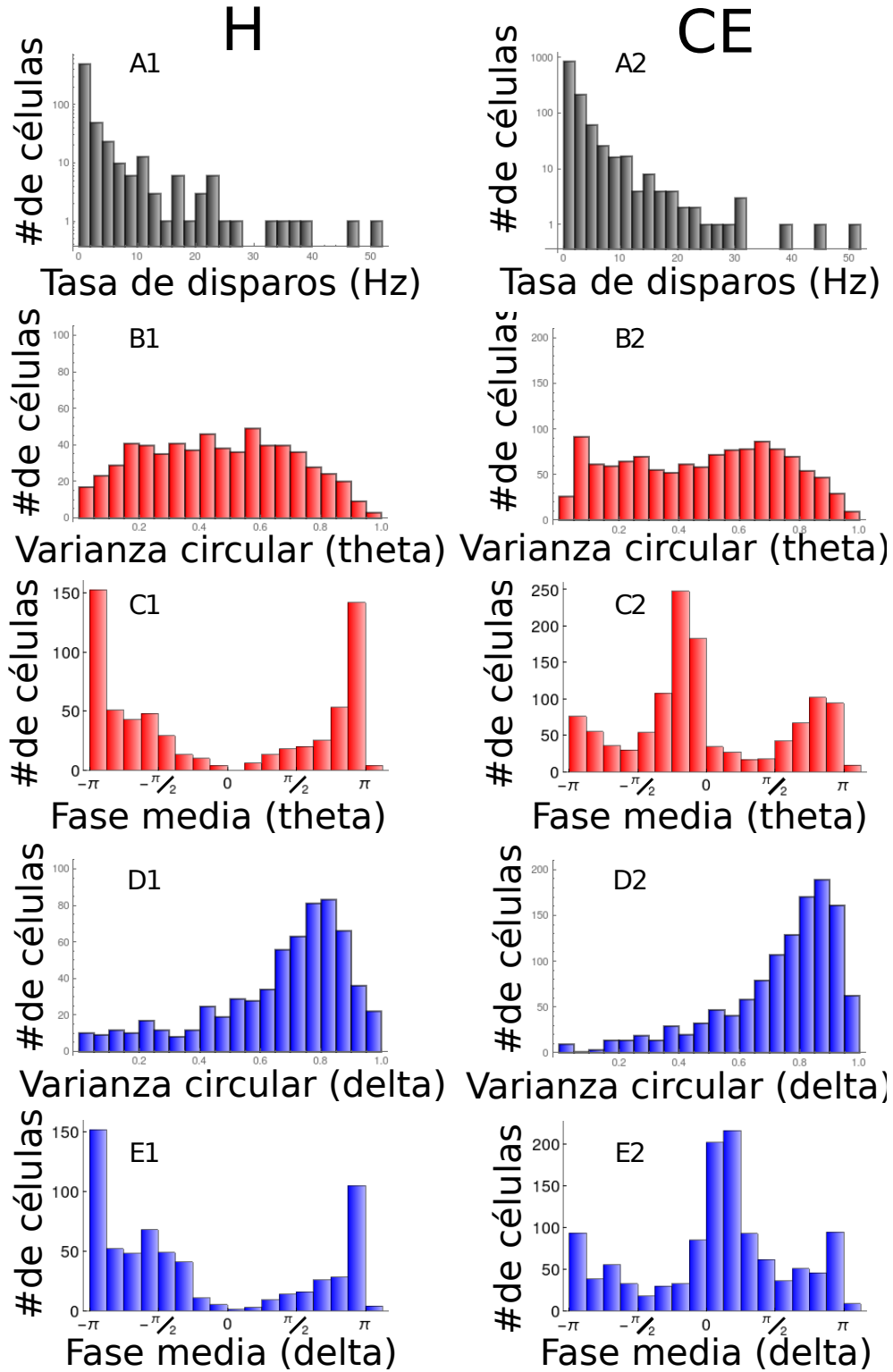
## 3.2. Resultados

### 3.2.1. Estadística poblacional de la actividad neuronal

En la Figura 3.5, se muestra la distribución de las tasas de disparos y varianzas circulares en la población de neuronas registradas. La distribución de tasas de disparos hipocampales (izquierda) y entorrinales (derecha) es exponencial desde frecuencias bajas hacia medias, con una cola larga extendiéndose hacia altas frecuencias. En el hipocampo la tasa media de disparos es  $2.2 \pm 5.5$  Hz, y en corteza entorrinal  $2.3 \pm 4.1$  Hz. Los dos valores medios no son significativamente diferentes (Student  $t$ -Test  $p = 0,9$ ), pero las formas de las distribuciones son significativamente distintas (Smirnov-Kolmogorov  $p < 0,0001$ ), principalmente debido a la diferencia entre ambas varianzas. La tasa de disparos media en ambas regiones es por lo tanto similar, pero en el H existe una mayor dispersión célula a célula.

La distribución de varianza circular de las fases de disparo con respecto al potencial de campo local filtrado en la banda *theta* es ancha en ambas áreas, con algunas células con valores menores a 0.1 (Figura 3.5, B1 y B2). En H, la varianza circular media es  $0.46 \pm 0.24$ , y en CE,  $0.48 \pm 0.26$ . Ambos valores medios no son significativamente diferentes (Student  $t$ -test  $p = 0,2$ ). La forma de la distribución puede o no ser considerada diferente dependiendo del criterio umbral de significancia (Smirnov-Kolmogorov  $p = 0,02$ ). Entonces, la sincronización al ritmo *theta* es comparable en ambas regiones. En H, las células sincronizadas al ritmo *theta* prefieren la fase  $\pi$  (Figura 3.5, C1), esto es, cuando el potencial de campo local alcanza un mínimo. En contraposición, en CE la distribución de sincronización es bimodal, con máximos en 0 y  $\pi$ , y preferencia por el primero (Figura 3.5, C2).

Las neuronas se encuentran sincronizadas en menor medida a la señal filtrada en la banda *delta* que a la señal filtrada en la banda *theta*. Para *delta*, la distribución de varianzas circulares tiene un pico en 0.8 para H, y en 0.9 para CE, con medias  $0.66 \pm 0.23$  y  $0.73 \pm 0.20$ , respectivamente (Figura 3.5, D1 y D2). Las dos distribuciones son más angostas que en el caso de *theta*. Las distribuciones obtenidas para H y CE son significativamente diferentes (Smirnov-Kolmogorov  $p < 0,0001$ ), al igual que los valores medios (Student  $t$ -test  $p < 0,0001$ ). Las células hipocampales se encuentran más sincronizadas al ritmo *delta* que las entorrinales. Con respecto al ritmo *delta*, las células hipocampales prefieren sincronizarse a las fase  $\pi$  (Figura 3.5, E1), mientras que



**Figura 3.5:** Distribución de las propiedades de respuesta en las neuronas registradas. Columna izquierda: Hipocampo. Columna derecha: Corteza Entorrinal. A: Histograma de tasas de disparos para toda la población. El eje vertical se muestra en escala logarítmica. B: Histogramas de la varianza circular de la fase de disparo con respecto al potencial de campo filtrado en la banda *theta*. C: Histogramas de la fase media de disparo respecto al potencial filtrado en banda *theta*. D y E: Lo mismo que B y C pero para el potencial filtrado en banda *delta*. Todas las varianzas circulares reportadas son significativas (Section 3.1.3).

las entorrinales se dividen nuevamente en dos poblaciones: una alrededor de la fase 0, y la otra en fase  $\pi$ , siendo la primera más numerosa (Figura 3.5, E2).

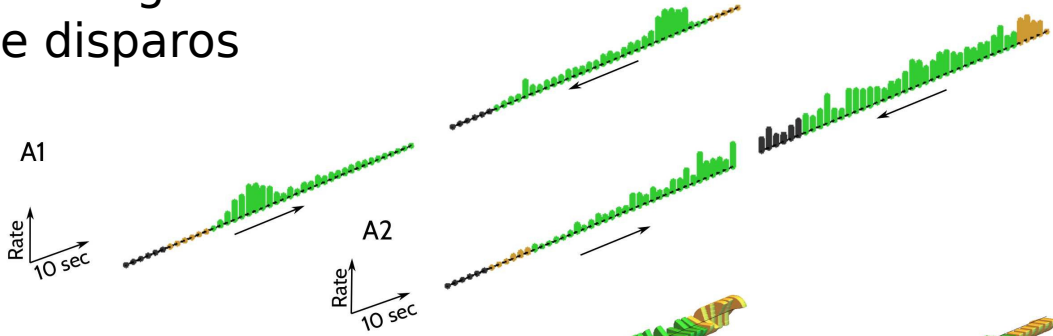
Las células que se encuentran altamente sincronizadas a un ritmo no pueden transmitir información utilizando un código de fase, porque la entropía total es pequeña. Aquellas células cuya fase de disparos varía considerablemente, y esa variación no está sujeta a un atributo cinemático tampoco tienen información significativa porque la entropía de ruido es grande. Las únicas neuronas que pueden codificar información en la fase de disparos se sincronizan de manera variable, y esa sincronización se modifica con el estímulo cinemático, modificando la fase de preferencia (fase media) o el grado de sincronización (varianza circular).

### 3.2.2. Ejemplos de neuronas con diferentes mecanismos de codificación

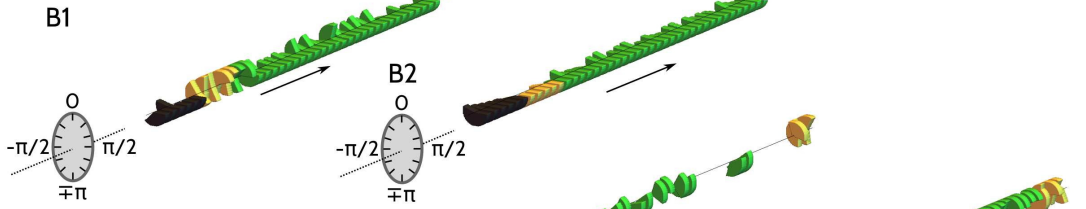
La inspección visual de las propiedades de respuesta de neuronas individuales revelan la existencia de códigos de tasa de disparos (Figura 3.6A) y códigos de fase de disparos, los últimos definidos en términos de ambas fases *theta* (Figura 3.6B) y *delta* (Figura 3.6C) del potencial de campo local.

La neurona entorrinal de la Figura 3.6A1 muestra selectividad a la posición. La tasa de disparos es máxima cuando la rata se encuentra en una región entre 220 y 250 cm alejada del comienzo del trayecto. La neurona hipocampal en la Figura 3.6A2 es, en cambio, selectiva a la dirección de movimiento. La tasa de disparos es máxima cuando la rata se encuentra corriendo hacia la izquierda. La neurona hipocampal de la Figura 3.6B1 codifica velocidad en la fase media de disparos con respecto al potencial de campo filtrado en la banda *theta*. La fase se encuentra significativamente sincronizada con fase  $\pi$ , exceptuando para velocidad alta, cuando se corre hacia  $-\pi/2$ . En el ejemplo hipocampal de la Figura 3.6B2, la varianza circular es prácticamente constante a lo largo del trayecto, exceptuando la primera parte del intervalo durante el tramo de velocidad lenta en el regreso (movimiento hacia la derecha) donde aumenta la variabilidad. Este es un ejemplo de codificación de información en la modulación de la varianza de la respuesta. La neurona entorrinal de la Figura 3.6C1, las fases de disparo con respecto a la banda *delta* se encuentran mayormente sincronizadas a la fase  $\pi/2$ , aunque ocasionalmente se desplazan hacia el ángulo 0, más notablemente a altas velocidades y hacia el final del trayecto durante el regreso. Las fases en *delta* del ejemplo hipocampal de la Figura 3.6C2 se encuentran mayormente sincronizadas a 0 grados, excepto para altas velocidades y un fragmento localizado a 1m desde el final del trayecto. Las fases de disparos de las dos neuronas de los ejemplos de la Figura 3.6D (hipocampal en D1 y entorrinal en D2) permanecen sincronizadas a lo largo de toda la trayectoria (en *delta* y *theta*, respectivamente).

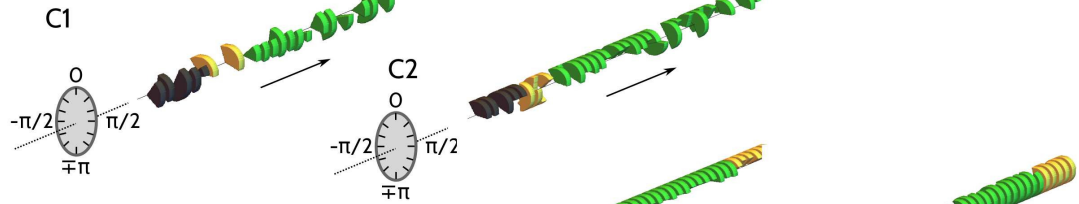
### A: Código de tasa de disparos



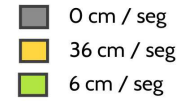
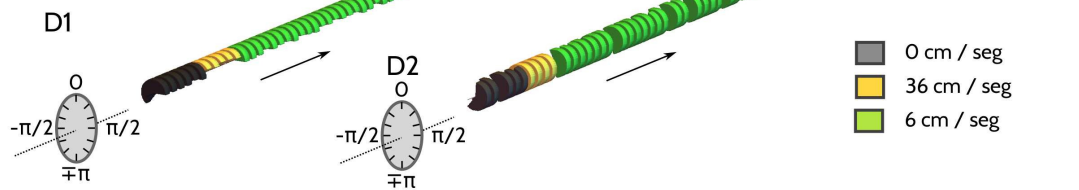
### B: Código de fase en theta



### C: Código de fase en delta



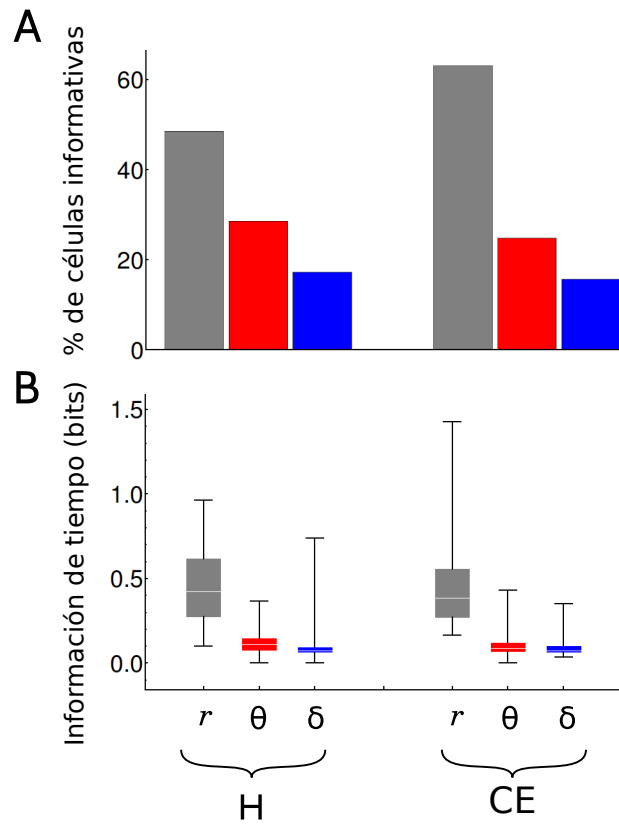
### D: Neuronas sincronizadas



**Figura 3.6: Ejemplos de neuronas que codifican distintas variables cinemáticas con los mecanismos estudiados.** Tasa de disparos media (**A1,A2**), y fase respecto al potencial de campo filtrado en *theta* (**B1,B2,D1**), y en *delta* (**C1,C2,D2**). El eje horizontal indica el tiempo, de izquierda a derecha. Las direcciones de movimiento hacia la derecha e izquierda se encuentran presentadas por separado. Las flechas indican dirección del movimiento. (**A**) Tasa máxima: 130 Hz (**A1**) y 95 Hz (**A2**). (**B–D**) Fase de disparos media y desviación estándar representadas con sectores de discos que cubren  $\langle \phi \rangle \pm \sqrt{-2 \ln(\sigma_\phi^2)}$  (Ecuaciones (3.1) y (3.2)). H: (**A2,B1,B2,C2,D1**). CE: (**A1,C1,D2**).

### 3.2.3. Codificación de la variable Tiempo por neuronas individuales

En el protocolo de navegación analizado en este trabajo las variables Posición, Velocidad y Dirección de movimiento son todas funciones de Tiempo. Por ende, el teorema del procesamiento de datos asegura que la información mutua calculada entre una variable fisiológica (como la tasa de disparos o la fase con respecto al potencial de campo filtrado en *delta* o *theta*) y la variable Tiempo es una cota superior a la información codificada en cualquiera de las demás variables cinemáticas. La Figura 3.7 muestra la dependencia de la información con el tiempo para cada mecanismo de codificación.



**Figura 3.7: Codificación de la variable Tiempo por neuronas individuales.** (A) Porcentaje de las células significativamente informativas respecto de la variable Tiempo en ambas regiones cerebrales (H y CE) y con los tres mecanismos de codificación (tasa de disparos, *theta* y *delta*). (B) Histogramas de cajas con información mutua  $I(Y; \text{Tiempo})$  de las células con cantidades significativas de información para las diferentes elecciones de la variable fisiológica  $Y$ . La línea horizontal representa la mediana, las cajas se extienden desde los percentiles 25 al 75, y los bigotes van desde los percentiles 5 al 95.

En ambas regiones (H y CE), la respuesta más informativa es la tasa de disparos, tanto respecto a la cantidad de neuronas con cantidades significativas de información como respecto a la cantidad de información codificada (Figura 3.7B). Aproximadamente la mitad (49%) de las células hipocampales transmiten información respecto a la variable Tiempo en sus tasas de disparos, y 63% de las células entorrinales. La diferencia entre estos dos porcentajes es significativa. La información codificada en las fases

respecto a *theta* y *delta*, aunque sustancialmente menor, no es despreciable. La fracción de células que codifican cantidades significativas de información en la fase *theta* es 29 % en H y 25 % en CE, y la diferencia es significativa. Menor cantidad de células están involucradas en el código en *delta*, 17 % en H y 16 % en CE.

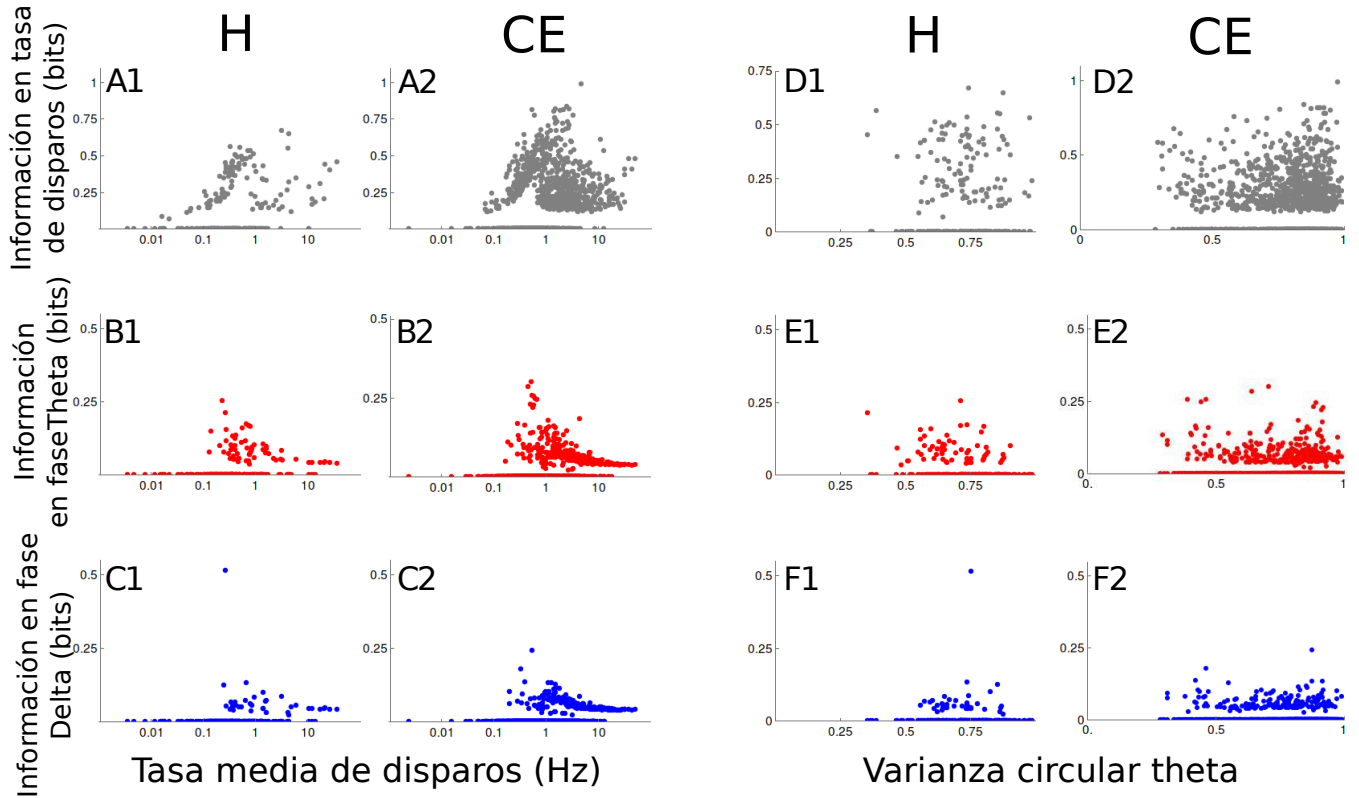
Aunque la información media transmitida con los dos mecanismos de codificación de fase es notablemente menor que la transmitida con el código de tasa de disparos (cerca de un cuarto), existen algunas neuronas en la población con valores altos de información (ver las colas de las distribuciones en la Figura 3.7B, indicadas con bigotes que se extienden hasta el percentil 95).

A continuación, se caracterizan las propiedades de disparo de las neuronas que codifican una cantidad significativa de información respecto a la variable Tiempo (Figura 3.8). Las células con las tasas medias de disparo más bajas codifican cantidades de información que no son significativas con los tres mecanismos de codificación (Figura 3.8A–C). Cuando la tasa media de disparos aumenta por encima de 0.1 Hz, la información codificada en el código de tasas aumenta con la tasa de disparos, hasta que la tasa alcanza aproximadamente 1 Hz, donde la información disminuye nuevamente (Figura 3.8A). En cambio, la información codificada en la fase de disparos con respecto a los potenciales de campo filtrados en las bandas *theta* y *delta* es monótonamente decreciente como función de la tasa media de disparos (Figura 3.8B,C).

El grado de sincronización al ritmo *theta* no está relacionado a la información codificada por ninguno de los tres mecanismos estudiados ya que la varianza circular asociada a los disparos en este ritmo no tiene correlación con los valores de información encontrados para ninguno de los tres mecanismos analizados (Figura 3.8D–F). Resultados similares se obtienen cuando se calcula el nivel de sincronización calculado respecto al potencial de campo filtrado en banda *delta*, el cual tampoco se correlaciona con los valores de información calculados.

#### 3.2.4. Codificación de múltiples variables cinemáticas por neuronas individuales

La Figura 3.9 describe la codificación de múltiples características cinemáticas (Posición, Dirección, Velocidad, etc.). Para todas las características cinemáticas analizadas, al igual que como ocurre con la variable Tiempo, el código de tasa de disparos es el que recluta mayor cantidad de neuronas, típicamente duplicando el número de neuronas involucradas en el código *delta* y *theta* (Figura 3.9A). Los códigos de fase, sin embargo, aún tienen representación en el 15 % (*delta*) y 25 % (*theta*) de la población. En el código de tasa de disparos, las características cinemáticas que se encuentran codificadas en mayor cantidad de neuronas son Posición y PosiciónDireccionada, por encima de la cantidad de neuronas que codifican Tiempo. Este resultado se deriva del hecho de



**Figura 3.8:** Relación entre la estadística de los disparos y la información sobre Tiempo. En cada panel, cada punto representa una célula distinta. Las neuronas que codifican una cantidad de información que no resulta significativa aparecen aglomeradas en el eje horizontal (el valor de información se impone a cero). Los coeficientes de correlación de Pearson entre los valores de información (incluyendo únicamente aquellas células que poseen cantidades significativas de información) son 0.04 (A1),  $-0.11^*$  (A2),  $-0.35^*$  (B1),  $-0.37^*$  (B2),  $-0.16^*$  (C1),  $-0.42^*$  (C2), donde el asterisco indica que los valores son significativamente diferentes de cero al nivel de significancia 0.01. Todos los coeficientes de correlación entre los paneles (D–F) son no significativos.



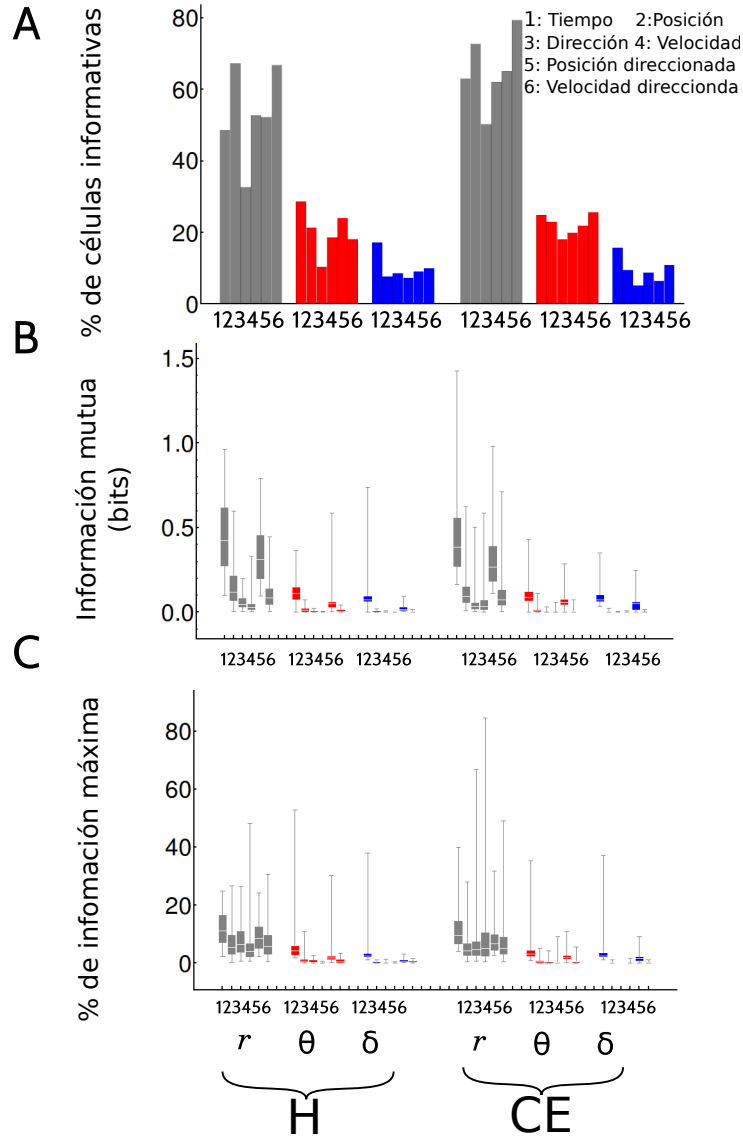
que el mayor número de segmentos en el trayecto que tiene la variable Tiempo hace que el análisis de significancia sea más estricto que los que se realizan con los demás atributos del comportamiento, que tienen menos cantidad de segmentos. En los tres códigos, Dirección es el atributo que recluta el menor número de neuronas. En el código de fase de disparos en *delta*, existe una diferencia notable entre el número de células que codifican la variable Tiempo y todos los demás atributos cinemáticos.

En la Figura 3.9B se muestran los valores de información respecto a la variable Tiempo y a las demás variables cinemáticas. En el código de tasa de disparos, la información codificada en la variable Tiempo es explicada mayormente por la información codificada por la variable PosiciónDireccionada, en ambas regiones. En cambio, en los dos códigos de fase, la información en PosiciónDireccionada representa una proporción menor de la información en Tiempo. Este resultado combinado con el hecho de que el Tiempo recluta significativamente mayor cantidad de neuronas (panel A) sugiere que los códigos de fase (específicamente el de fase en *delta*) representa conjunciones específicas de las variables Posición, Velocidad y Dirección, que no pueden ser analizadas con un único atributo. Dichas conjunciones son evidentes en la Figura 3.6C1,C2.

Con el objetivo de comparar los valores de información acerca de múltiples atributos cinemáticos, en la Figura 3.9C, los valores de información se encuentran normalizados con la entropía de la variable codificada. Por ejemplo, la variable Tiempo contiene 82 segmentos, de manera que una célula totalmente informativa transmite  $\log_2(82) \approx 6,3$  bits de información. En cambio, la variable Dirección, que sólo contiene 2 bins, puede transmitir a lo sumo 1 bit de información. Cuando los valores de información se normalizan, la variable Tiempo es aún la característica más informativa, indicando que su prevalencia no es una mera consecuencia de contener mayor cantidad de segmentos. De hecho, el código temporal contiene información acerca de características que no están descritas por las demás variables cinemáticas analizadas. Sin embargo, los demás atributos del comportamiento, aparecen más planos en el panel C que en el B. En particular, la codificación de Dirección es casi imperceptible en el panel B, pero los valores aumentan en el panel C. Entonces, la única razón por la cual la información en dirección es baja, es que únicamente contiene dos posibilidades, no porque exista poca información.

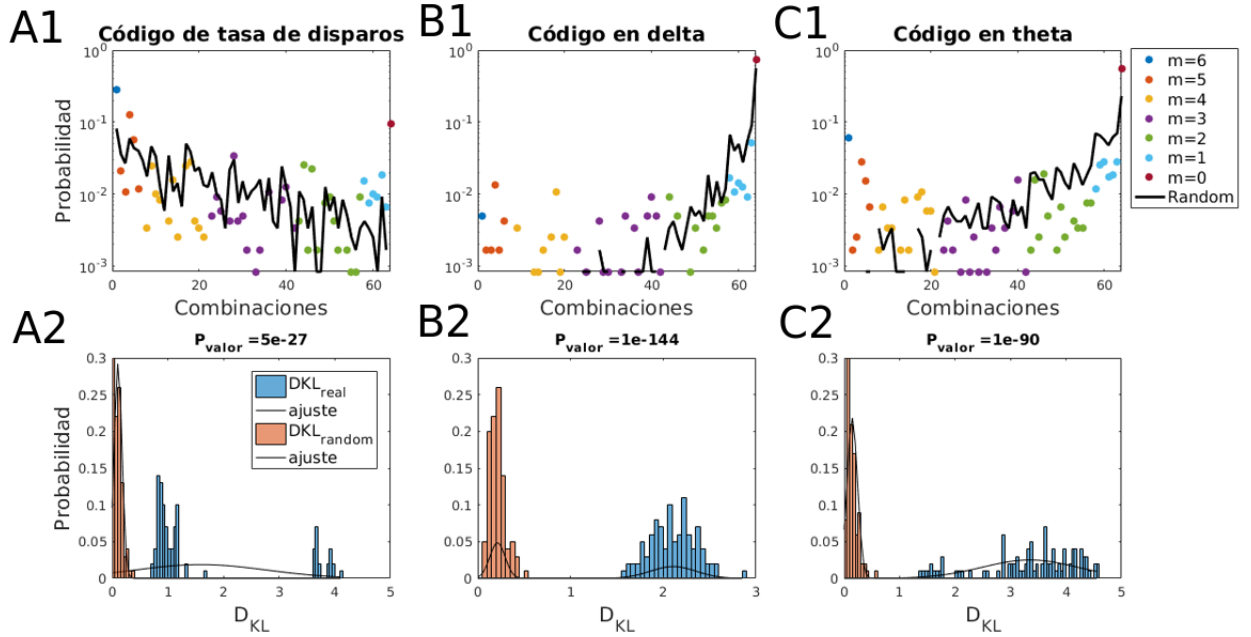
Para decidir cuáles diferencias entre áreas cerebrales, atributos cinemáticos y mecanismos de codificación son significativas, se utiliza un test de hipótesis que involucra todas las posibles combinaciones de áreas + código + característica.

Repitiendo el análisis de la Figura 3.8 con todos los atributos cinemáticos, los resultados obtenidos para la variable PosiciónDireccionada fueron similares a los obtenidos para el Tiempo. La información mutua respecto a las demás variables cinemáticas son todas funciones decrecientes de la tasa media de disparos.



**Figura 3.9: Codificación de múltiples variables cinemáticas en neuronas individuales.** (A) Porcentaje de células que son informativas respecto a las diferentes variables cinemáticas en las dos regiones cerebrales (H y CE) y los tres mecanismos de codificación (tasa de disparos,  $\theta$  y  $\delta$ ). (B) Histograma de cajas con la información mutua  $I(Y; \text{variable cinemática})$  para diferentes elecciones de la variable fisiológica  $Y$  y la característica comportamental. Sólo aquellas células que pasan el criterio de significancia de la Sec. 3.1.4 son incluidas. (C) lo mismo que (B), pero los valores de información se encuentran normalizados al máximo valor posible (la entropía de la variable cinemática).

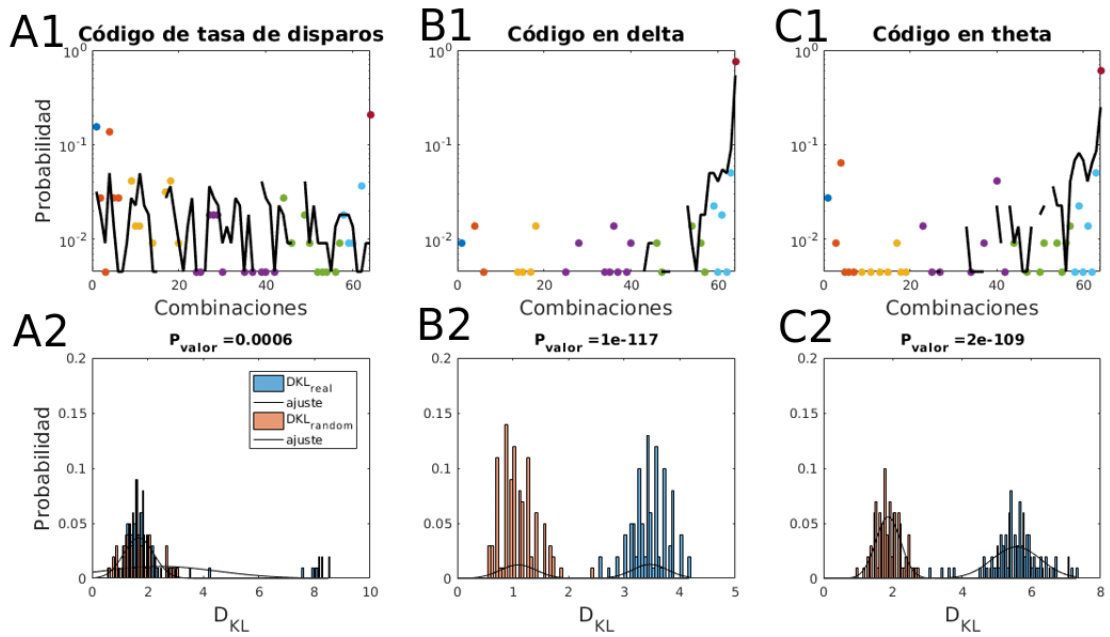
### 3.2.5. Codificación conjunta de aspectos cinemáticos



**Figura 3.10: Distribución de probabilidad conjunta de codificación en CE.** Se presenta la distribución de probabilidad  $P_S(s_t, s_x, s_d, s_v, s_{xd}, s_{vd})$ , separando lo que corresponde a  $m$  atributos codificados. En diferentes colores del gráfico de puntos se indica la cantidad de valores  $s_i = 1$  que posee el vector  $(s_t, s_x, s_d, s_v, s_{xd}, s_{vd})$ . En el eje  $x$  se representan las diferentes combinaciones de 0 y 1 que toma dicho vector, ordenadas en  $m$  decreciente. En el Apéndice B se presenta la lista de combinaciones binarias en el orden analizado. En negro se muestra un ejemplo de una realización de  $P_{random}$  que modela la situación de independencia en donde se preservan las distribuciones marginales  $P_{S_i}(s_i) \forall i$ . (A1) Tasa de disparos. (B1) Fase de *delta*. (C1) Fase de *theta*. Además se muestran las distribuciones de la divergencia de Kullback-Leibler entre 100 realizaciones de  $P_{random}$  y  $P_S$ , junto con las distribuciones de divergencia de Kullback-Leibler entre diferentes realizaciones de  $P_{random}$ . (A2) Tasa de disparos. (B2) Fase de *delta*. (C2) Fase de *theta*. En el título de cada panel se presenta el p-valor obtenido con un t-test.

Las Figuras 3.10.1 y 3.11.1 muestran las distribuciones de probabilidad  $P_S(s_t, s_x, s_d, s_v, s_{xd}, s_{vd})$ , computada a partir de los vectores  $(S_t, S_p, S_d, S_s, S_{pd}, S_{sd})$  definidos en la Sec. 3.1.6, obtenidas para los diferentes mecanismos de codificación analizados para CE y H, respectivamente. En las mismas figuras se muestra un ejemplo de una realización de la distribución  $P_{random}(s_t, s_x, s_d, s_v, s_{xd}, s_{vd})$  que se obtendría si los vectores  $(s_t, s_x, s_d, s_v, s_{xd}, s_{vd})$  fuesen generados a partir de una distribución aleatoria donde el problema de elegir cuáles atributos serán codificados se reduce a tomar  $0 < m < 6$  elementos al azar (sin reposición) de una bolsa, y cada elemento representa la codificación de un dado atributo. En este caso, la distribución  $P_{random}$  está generada de manera tal que preserva las mismas distribuciones marginales para las variables  $S_i$  que  $P_{S_i} \forall i$ .

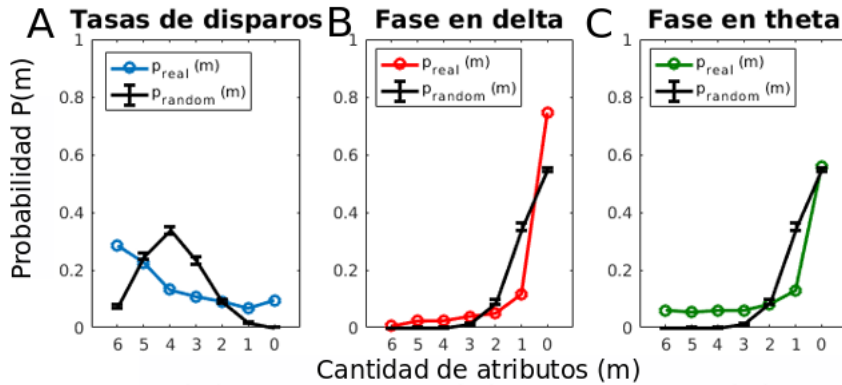
La distribución obtenida para la codificación de diferentes atributos en la población es significativamente diferente a las que se obtendrían de la distribución al azar que se obtiene como el producto de las marginales  $P_{S_i}(s_i)$ . Esta afirmación se verifica al computar la divergencia de Kullback-Leibler entre diferentes realizaciones de  $P_{random}$  y



**Figura 3.11: Distribución de probabilidad conjunta de codificación en H.** Se presenta la distribución de probabilidad  $P_S(s_t, s_x, s_d, s_v, s_{xd}, s_{vd})$ , separando lo que corresponde a  $m$  atributos codificados. En diferentes colores del gráfico de puntos se indica la cantidad de valores  $s_i = 1$  que posee el vector  $(s_t, s_x, s_d, s_v, s_{xd}, s_{vd})$ . En el eje  $x$  se representan las diferentes combinaciones de 0 y 1 que toma dicho vector, ordenadas en  $m$  decreciente. En el Apéndice B se presenta la lista de combinaciones binarias en el orden analizado. En negro se muestra un ejemplo de una realización de  $P_{random}$  que modela la situación de independencia en donde se preservan las distribuciones marginales  $P_{S_i}(s_i) \forall i$ . (A1) Tasa de disparos. (B1) Fase de *delta*. (C1) Fase de *theta*. Además se muestran las distribuciones de la divergencia de Kullback-Leibler entre 100 realizaciones de  $P_{random}$  y  $P_S$ , junto con la distribuciones de divergencia de Kullback-Leibler entre diferentes realizaciones de  $P_{random}$ . (A2) Tasa de disparos. (B2) Fase de *delta*. (C3) Fase de *theta*. En el título de cada panel se presenta el p-valor obtenido con un t-test.

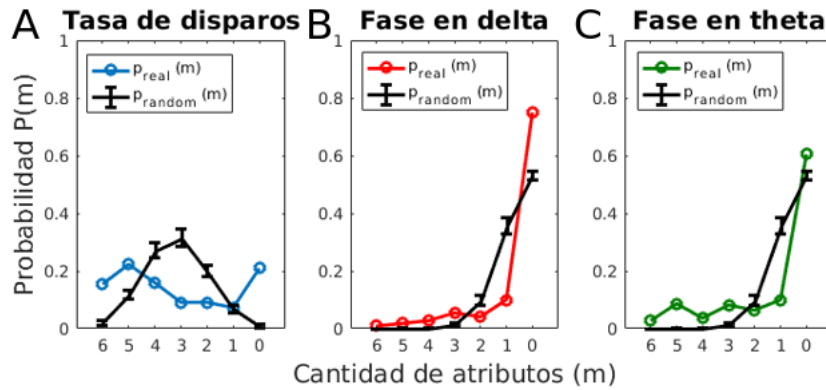
$P_S$  (que será llamada  $DKL_{real}$ ). La media de la distribución de  $DKL_{real}$  es significativamente distinta a la media que se obtiene al comparar (en múltiples repeticiones) dos realizaciones diferentes de  $P_{random}$  (que será llamada  $DKL_{random}$ ). Las Figuras 3.10.2 y 3.11.2 muestran las distribuciones de valores de DKL obtenidos para CE y H, respectivamente. Todos los p-valores obtenidos de un t-test para comparar la distribución de  $DKL_{real}$  con  $DKL_{random}$  son chicos para todos los códigos neuronales (figuras A,B y C correspondientes a tasa de disparos,  $\delta$  y  $\theta$ , respectivamente).

Entonces, la distribución  $P_S(s_t, s_x, s_d, s_v, s_{xd}, s_{vd})$  es significativamente diferente de la que se obtendría por datos generados de manera aleatoria. Esto significa que los diferentes atributos analizados no se codifican de manera independiente. Realizando un análisis mediante el método de covarianzas se obtiene el mismo resultado, observándose que el vector principal tiene proyecciones equivalentes en todas las componentes del código. Lo que permite concluir que las variables cinemáticas Tiempo, Posición, Dirección, Velocidad, Velocidad Direccionada y PosiciónDireccionada se encuentran codificadas de manera correlacionada. Parte de esta correlación puede ser inducida por el hecho de que algunas de estas variables se encuentran correlacionadas *a priori* por el protocolo experimental, pero no es posible a partir de este cálculo separar las componentes de correlación heredadas del experimento y aquellas que son propias del código neuronal. En esta misma sección se analizará exclusivamente la codificación de aquellos aspectos cinemáticos que son *a priori* independientes utilizando el concepto de sinergia.



**Figura 3.12: Distribución de probabilidad de codificación de  $m$  atributos,  $P(m)$  en CE.** Se presenta la distribución de probabilidad  $P(m) = \sum_{s_i=m} P_S(s_t, s_x, s_d, s_v, s_{xd}, s_{vd})$ , donde  $m$  representa el número de atributos codificados para los diferentes mecanismos de codificación en corteza entorrinal. A su vez, se muestra en negro la distribución de probabilidad de codificación de  $m$  atributos que se obtendría con la hipótesis nula que preserva las distribuciones marginales de codificación de cada atributo. La curva negra es la media sobre múltiples realizaciones y las barras de error representan el desvío estándar. (A) Tasa de disparos. (B) Fase en  $\delta$ . (C) Fase en  $\theta$ .

Condicionando la distribución de probabilidad a la codificación de  $m$  atributos se observa que la probabilidad  $P(m)$  (probabilidad de una neurona de codificar  $m$  atributos en simultáneo) es no uniforme (Figura 3.12 para CE y 3.13 para H) para cualquiera

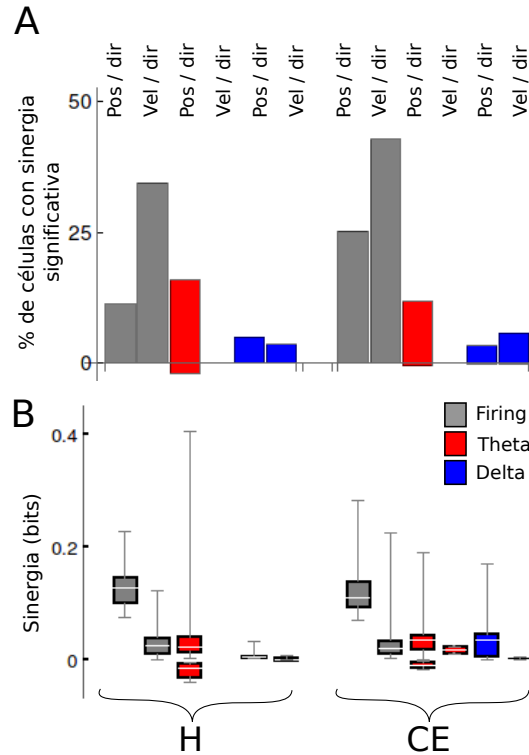


**Figura 3.13: Distribución de probabilidad de codificación de  $m$  atributos,  $P(m)$  en H.** Se presenta la distribución de probabilidad  $P(m) = \sum_{s_i=m} P_S(s_t, s_x, s_d, s_v, s_{xd}, s_{vd})$ , donde  $m$  representa el número de atributos codificados para los diferentes mecanismos de codificación en hipocampo. A su vez, se muestra en negro la distribución de probabilidad de codificación de  $m$  atributos que se obtendría con la hipótesis nula que preserva las distribuciones marginales de codificación de cada atributo. La curva negra es la media sobre múltiples realizaciones y las barras de error representan el desvío estándar. (A) Tasa de disparos. (B) Fase en *delta*. (C) Fase en *theta*.

de los tres mecanismos (tasa de disparos, fase en *delta* y fase en *theta*). A su vez si se compara  $P(m)$  obtenida de los datos con la que se obtiene de codificar  $m$  al azar (conservando las probabilidades marginales) se obtiene que  $P(m)$  es significativamente diferente de la distribución de codificación de  $m$  atributos al azar. Nuevamente, parte de esta diferencia con la hipótesis nula podría explicarse con el hecho de que existe un subconjunto de variables que se encuentran correlacionadas en el protocolo experimental, y tales correlaciones se heredan en la codificación de las mismas. Dicha correlación es la que podría estar induciendo que en el código de tasa de disparos lo más probable es que se codifiquen todos (o la mayoría) los atributos en simultáneo (resultado que difiere significativamente de la hipótesis de total independencia). Lo mismo podría estar ocurriendo con los códigos de fase, para lo cuales la probabilidad de codificar múltiples atributos en simultáneo es mayor que la que se obtiene por azar (observar que las curvas roja y verde de las Figuras 3.12 y 3.13 se encuentran por encima de la negra para más de dos atributos,  $m > 2$ ).

A continuación se analiza la dependencia entre la codificación de las variables cinemáticas que a priori son independientes verificando, en este caso, si la posición y la velocidad se encuentran mejor codificadas en su versión con signo o sin signo en cada código. Esta pregunta se resuelve calculando la cantidad de sinergia  $S_k$  (definida en la Sec. 3.1.6) entre Posición y Dirección, al igual que entre Velocidad y Dirección. Si la información respecto a la variable direccionada es significativamente mayor a la suma de las variables no direccionadas y la variable Dirección, entonces el código neuronal representa conjunciones de las variables cinemáticas. En este caso,  $S_k > 0$ . El caso contrario, en el que  $S_k < 0$ , resulta en una codificación redundante. El caso  $S_k = 0$  corresponde a la codificación independiente de estos pares de atributos cinemáticos.

Puede observarse en la Figura 3.14 que el código de tasa de disparos representa la Posición y Dirección de manera sinérgica en ambas áreas, de la misma manera que lo hace con la Velocidad y Dirección. Dentro del código de tasa de disparos,  $S_k$  no puede nunca ser negativo, es decir el código no puede ser redundante debido a que la redundancia es únicamente posible si las dos variables cinemáticas se encuentran estadísticamente relacionadas, es decir si  $I(\text{Posición}; \text{Dirección}) > 0$ , o si  $I(\text{Velocidad}; \text{Dirección}) > 0$ . Dichos valores de información mutua involucran sólo a las variables cinemáticas, y se encuentran determinadas por el paradigma experimental. Por esta razón, este experimento excluye la posibilidad de encontrar redundancia en la codificación estos pares de atributos. Otros pares de características, como posición y velocidad, se encuentran correlacionados por el protocolo de comportamiento. Como dicha correlación se encuentra pura y exclusivamente determinada por el experimento, y no por el código neuronal, en este caso se restringe el análisis de sinergia a los atributos Posición y Dirección, así como también Velocidad y Dirección.



**Figura 3.14: Cantidad de sinergia y redundancia entre pares de atributos cinemáticos.** (A) Porcentaje de células para las cuales la codificación de Posición y Dirección, o de Velocidad y Dirección, es sinérgica, en diferentes regiones y distintos códigos. Las barras positivas (negativas) muestran los casos donde  $S_k > 0$  ( $S_k < 0$ ). (B) Histograma de cajas con la cantidad de sinergia entre los atributos cinemáticos, con valores positivos y negativos mostrados por separado. Sólo se incluyen los valores de sinergia o redundancia significativamente distintos de cero. Los parámetros del histograma son los mismos que en la Figura 3.7.

El código de fase en banda *theta* presenta algunos ejemplos de redundancia entre las variables Posición y Dirección. Estos casos aparecen porque, en los códigos de fase, no todos los segmentos temporales son utilizados para calcular la información mutua. La

fase de disparo de una neurona no puede calcularse en ausencia de disparos, por lo que al calcular la información mutua, los segmentos en los cuáles la célula no dispara son descartados del conjunto de estímulos posibles. Si el número de segmentos descontados en el trayecto de ida difiere del número descartado en el trayecto de regreso, es posible que aparezca una correlación entre Posición y Dirección. Por lo tanto, la redundancia en un código de fases sólo puede ser observada en neuronas cuyas tasas de disparos son asimétricas en los trayectos de ida y vuelta. Además de estos pocos ejemplos redundantes, existe un gran número de células que codifican Posición y Dirección de manera sinérgica. Por lo tanto, el código de fase en *theta* es más modulado por conjunciones entre locación y Dirección que por los atributos separados. En contraposición, no se encontró ninguna célula en H o en CE con cantidades significativas de sinergia o redundancia entre Velocidad y Dirección para el código de fase en *theta*. En el código de fase en *delta*, algunas neuronas en ambas regiones, codifican de manera sinérgica ambos pares de atributos cinemáticos, y no hay ningún caso de redundancia.

### 3.2.6. Coexistencia regional en la codificación de variables cinemáticas

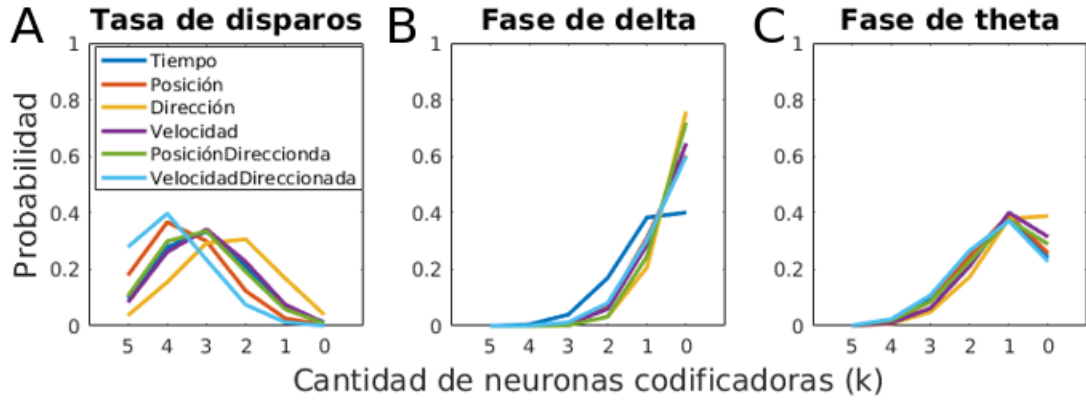
A partir de los vectores poblacionales de codificación de la sección anterior, se estudian las propiedades de codificación conjunta en una región confinada realizando el análisis propuesto en la Sec. 3.1.7 en grupos de neuronas.

El objetivo de este análisis es comparar las distribuciones de probabilidad de codificación conjunta de alguna variable cinemática con la distribución teórica que se obtendría con la ecuación binomial (3.5) (Sec. 3.1.7), que representa codificación conjunta independiente en la región. Utilizando las proporciones de células con información significativa de la Figura 3.9A se calcula la distribución de probabilidad  $P_{bSi}(k)$  teórica. Esta distribución representa el conocido problema de tomar pelotas de una bolsa con cierta característica. En este caso si se toman  $k$  neuronas de un conjunto que fue registrado en simultáneo en una región confinada (con una total de  $M$  neuronas), la probabilidad de que esas  $k$  células codifiquen un dado atributo es la distribución binomial. En dicha bolsa, se cumple que, si la probabilidad de una neurona de codificar una variable cinemática es  $P_i$ , y la bolsa contiene  $M$  neuronas, entonces dentro de la bolsa hay  $n_i = MP_i$  neuronas codificadoras y  $M - n_i$  neuronas no codificadoras.

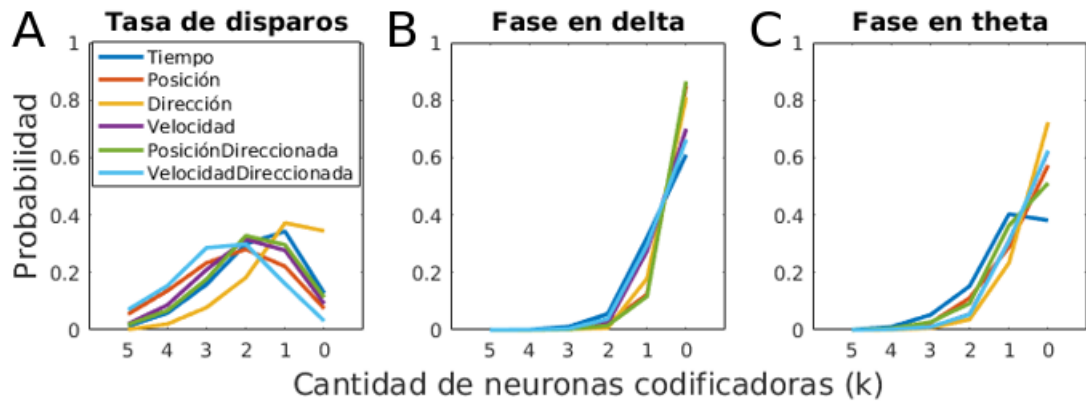
Las Figuras 3.15 y 3.16 muestran las distribuciones de probabilidad reales obtenidas con  $M = 5$  para todas las variables cinemáticas con los tres tipos de códigos en CE y H, respectivamente.

Para realizar la comparación entre las distribuciones obtenidas de los datos de las Figuras 3.15 y 3.16 con la hipótesis de independencia, se calcula la distribución  $P_{bSi}(k)$  asociada a cada caso, y se computa la divergencia de Kullback-Leibler entre

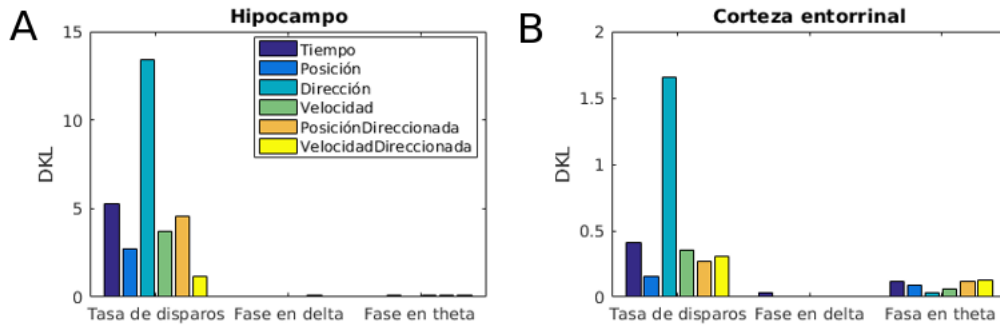




**Figura 3.15:** Distribución de probabilidad  $P_{bSi}(k)$  para  $k$  neuronas en CE tomadas de un total  $M = 5$ . Probabilidad  $P_{bSi}(k)$  de que  $k$  neuronas registradas en simultáneo en la misma región codifiquen a la vez los diferentes atributos del comportamiento en CE. Los distintos colores muestran las variables cinemáticas analizadas. Los distintos paneles muestran diferentes mecanismos de codificación. (A) Tasa de disparos, (B) Fase de *delta*. (C) Fase de *theta*.



**Figura 3.16:** Distribución de probabilidad  $P_{bSi}(k)$  para  $k$  neuronas en H tomadas de un total  $M = 5$ . Probabilidad  $P_{bSi}(k)$  de que  $k$  neuronas registradas en simultáneo en la misma región codifiquen a la vez los diferentes atributos del comportamiento en H. Los distintos colores muestran las variables cinemáticas analizadas. Los distintos paneles muestran diferentes mecanismos de codificación. (A) Tasa de disparos, (B) Fase de *delta*. (C) Fase de *theta*.



**Figura 3.17:** Comparación entre la distribución de probabilidad de codificación conjunta y  $P_{bSi}(k)$  para 5 neuronas. Divergencia de Kullback-Leibler entre la distribución de probabilidad obtenida de los datos para la codificación conjunta y la distribución obtenida de la Ec.(3.5), donde se respetan las  $P_{Si}$  de los datos. En cada figura se muestra el resultado de DKL para cada variable cinemática con los tres mecanismos de codificación. (A) H. (B) CE.

ambas. En la Figura 3.17 se reportan los resultados obtenidos en ambas regiones, para los tres códigos y todas las variables cinemáticas. En los casos de código de fase, las distribuciones obtenidas de los datos son muy similares a las que se obtienen de la hipótesis de independencia (los valores de DKL son chicos) tanto en H como en CE. Esto significa que en una región limitada del espacio donde se registran estas neuronas, la probabilidad de que un subconjunto de estas codifique en simultáneo una variable cinemática es igual a la probabilidad que se obtiene con la hipótesis de independencia. Sin embargo, en el código de tasa de disparos los valores de DKL son mayores, particularmente en el caso de Dirección. Esto significa que el código de tasa de disparos tiene una organización estructural en regiones cercanas (principalmente en H), donde la probabilidad de que una neurona codifique una variable cinemática determinada se encuentra condicionada por lo que hacen las neuronas que se encuentran alrededor (en regiones cercanas que pueden ser registradas por un mismo electrodo). Esto podría indicar que existe algún mecanismo de articulación local que organiza la codificación de variables cinemáticas de manera anatómica. Una hipótesis posible podría ser que de esta manera neuronas cercanas contienen información diferente del entorno y pueden transmitirla en un corto período ayudando a que los procesamiento locales ocurran con mayor rapidez y eficiencia.

### 3.2.7. Múltiples mecanismos de codificación en neuronas individuales

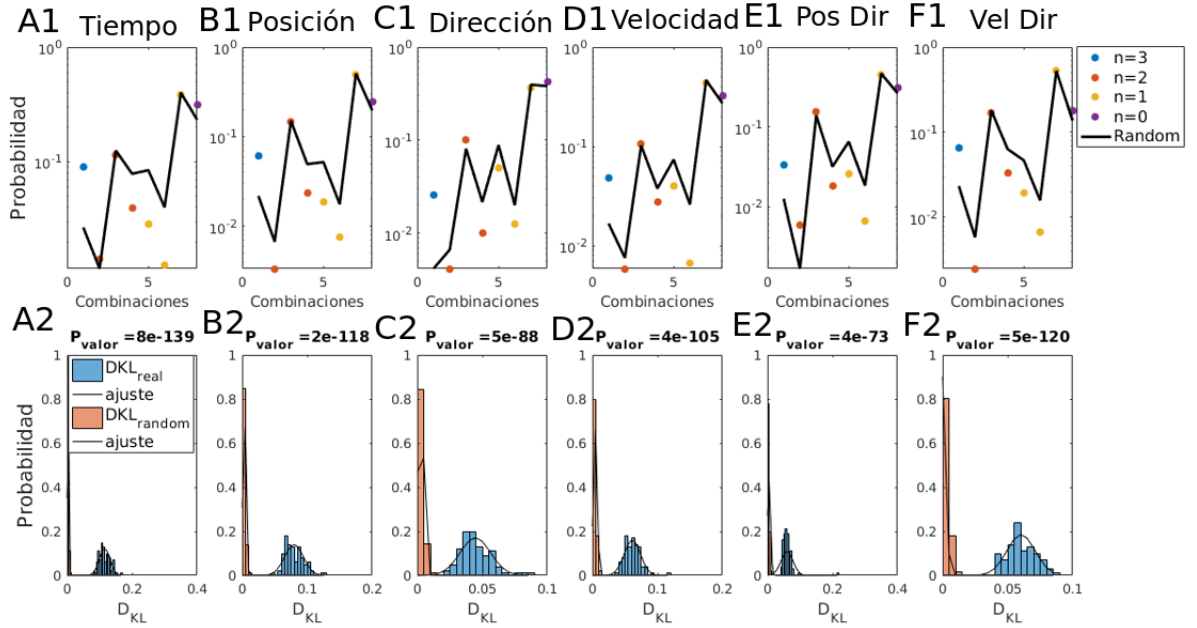
Una pregunta importante respecto a la estrategia de señalización es si los diferentes códigos neuronales se distribuyen en la población de neuronas independientemente unos de otros. El hecho de que los códigos fuesen independientes significaría que la probabilidad de que una neurona codifique cantidades significativas de información con un mecanismo de codificación (por ejemplo, tasa de disparos) no afecta la probabilidad de

que emplee otro mecanismo de codificación (fase en *delta* o en *theta*). Si los mecanismos de codificación no son independientes, existen dos posibilidades. La primera es aquella en la que las neuronas tienden a agruparse en categorías disjuntas, cada categoría especializada en un mecanismo de codificación, por ejemplo, neuronas de tasa de disparos, neuronas *theta* o neuronas *delta*. Esta alternativa es esperable si uno de los códigos, por ejemplo, el de tasa de disparos, requiere la presencia de características biofísicas particulares que no son compatibles con otros mecanismos de codificación, como códigos de fase *delta* o *theta*. La segunda posibilidad es aquella en la que las neuronas tiendan a ser informativas o no informativas, independientemente del mecanismo de codificación, y dentro de aquellas informativas, la probabilidad de que dos o más códigos coexistan es mayor que la probabilidad del caso independiente. Esta alternativa sería esperable si las propiedades que son explotables por un código también lo son por otro. Cabe destacarse que, a priori no existen razones para presuponer que la variable tasa de disparos puede estar correlacionada con las variables de fase; y que las correlaciones que puedan encontrarse en codificación sean producto de las correlaciones preexistentes. En el Capítulo 4 se abordará el tema de cuán correlacionados se encuentran los ritmos *delta* y *theta*.

Para responder a la pregunta de independencia entre códigos, se verifica si el conocimiento de que una dada célula codifica o no una cantidad significativa de información con un mecanismo de codificación puede utilizarse para predecir si esta misma neurona también utiliza otro mecanismo. Para ello, se definen las variables binarias  $C_r, C_\theta, C_\delta$  que representan si una dada célula codifica o no información con un determinado mecanismo respecto a la variable Tiempo (o alguna otra variable comportamental) con los códigos de tasa de disparos, *theta* y *delta*, respectivamente (Sec. 3.1.8). Se construye la distribución  $P_C(c_r, c_\theta, c_\delta)$ , donde  $P_{C_i}(c_i = 1) = f(c_i) \forall i$ , y donde  $i \in (r, \theta, \delta)$  representan código de tasa de disparos, fase en *theta* y fase en *delta*, respectivamente; y  $f(c_i)$  es la fracción de células que utiliza el mecanismo  $i$  para codificar información.

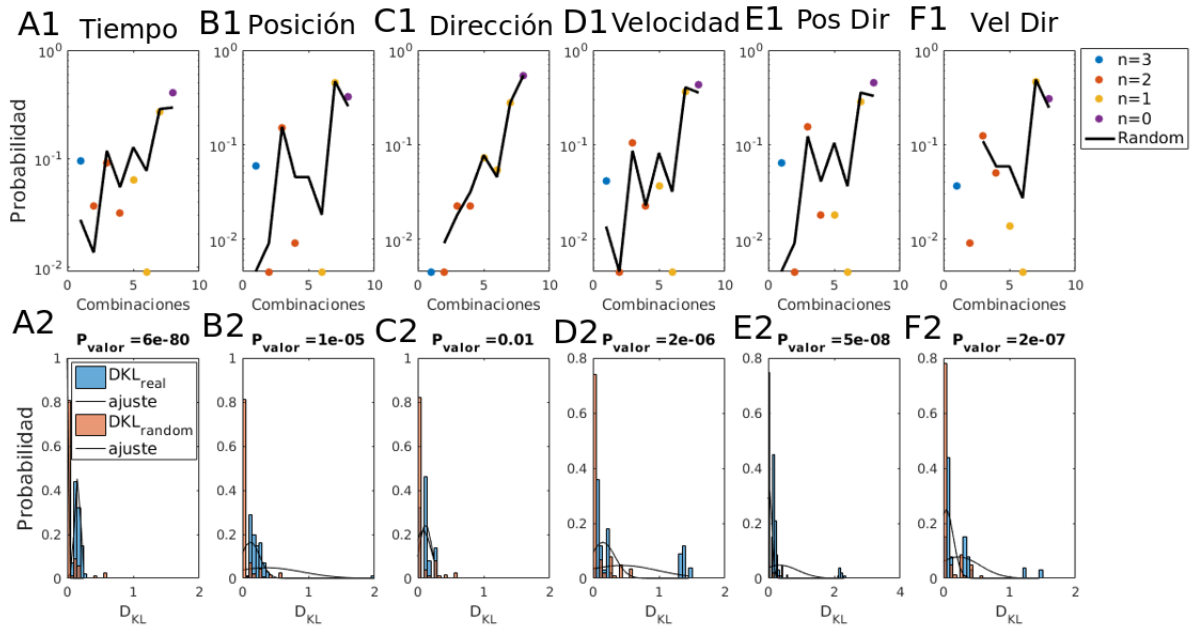
Las Figuras 3.18.A y 3.19.A muestran las distribuciones de probabilidad  $P_C$  para los diferentes atributos del comportamiento y un ejemplo generado al azar que preserva las marginales  $P_{C_i}$  para CE e H, respectivamente. En el panel inferior (Figuras 3.18.B y 3.19.B) se presentan las distribuciones de divergencia de Kullback-Leibler de las distribuciones  $P_C$  y el caso independiente. Para todos los atributos cinemáticos (y en ambas regiones cerebrales) las distribución  $P_C$  es significativamente diferente de aquella que se obtiene con el caso independiente. Los p-valores indicados en las figuras muestran que las distribuciones de DKL son significativamente distintas a los valores de DKL que se obtendrían al comparar dos distribuciones generadas al azar. En las Figuras 3.18.A y 3.19.A se observa que la mayor diferencia se encuentra en la probabilidad de que las tres variables codifiquen algún atributo cinemático en simultáneo. Nuevamente, parte de esta diferencia con la distribución generada al azar puede deberse exclusivamente

a la existencia de correlaciones previas entre las variables de codificación, que no son tenidas en cuenta en la hipótesis de independencia. En este caso, dado que se trabaja con tres variables es posible realizar un análisis de correlación de a pares que será presentado más adelante en este trabajo, y que permitirá mostrar cuáles mecanismos de codificación se encuentran correlacionados (siendo estos los que incorporan diferencias a la hipótesis de independencia).



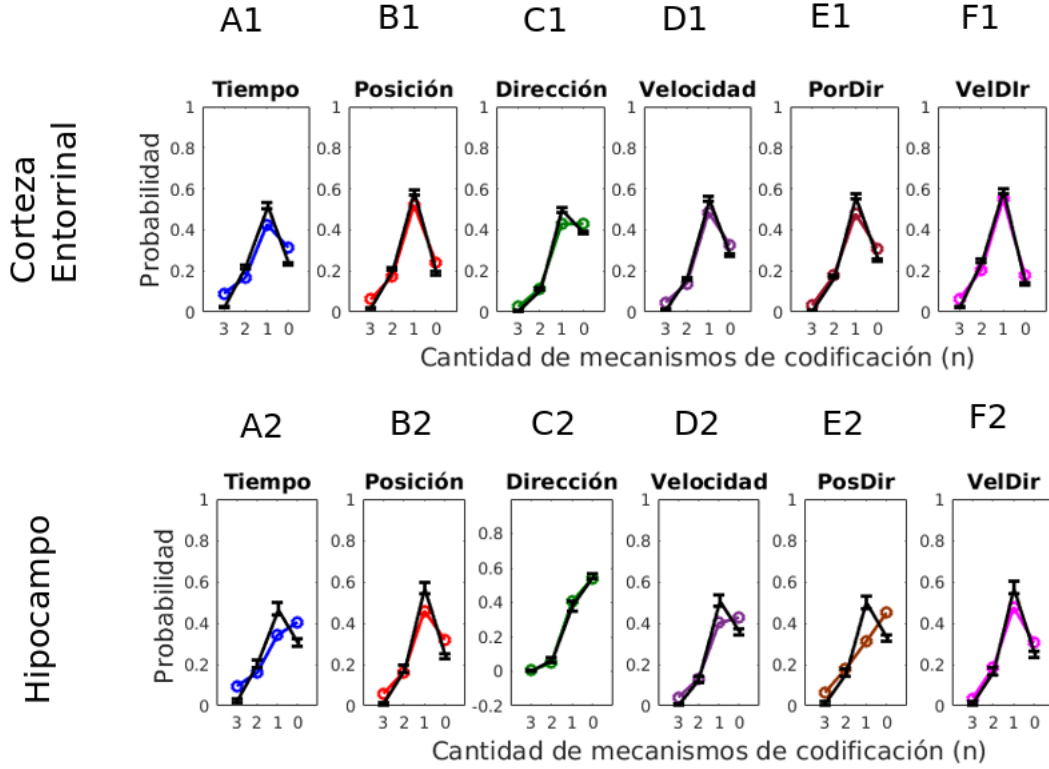
**Figura 3.18: Distribución de probabilidad de codificación con  $n$  mecanismos en CE.** Distribución de probabilidad  $P_C$  obtenida a partir de los vectores  $(c_r, c_\delta, c_\theta)$ . En el eje  $x$  se muestran las combinaciones de manera creciente en cantidad de mecanismos de codificación utilizados por la población neuronal. En negro se muestra una realización de la distribución independiente que preserva las marginales  $P_{C_i}$ . (A1) Codificación del tiempo. (B1) Codificación de la Posición. (C1) Codificación de la Dirección. (D1) Codificación de la Velocidad. (E1) Codificación de la Posición Direccional. (F1) Codificación de Velocidad Direccional. En los paneles inferiores se muestran, para los mismos atributos cinemáticos, la distribución de valores de divergencia de Kullback-Leibler entre la distribución  $P_C$  y múltiples realizaciones independientes (azul). A su vez se presenta la distribución de DKL que resulta al comprar dos realizaciones independientes diferentes (naranja). En la parte superior del gráfico se muestra el p-valor obtenido con un t-test para diferenciar ambas distribuciones.

Al igual que en el caso de atributos codificados en simultáneo, es posible preguntarse acerca de la probabilidad de que se usen  $n$  mecanismos en simultáneo computando la distribución  $P(n) = \sum_{P_C / \sum c_i = n} P_C(c_r, c_\theta, c_\delta)$ . La Figura 3.20 muestra la probabilidad de que una neurona codifique información respecto a cada variable cinemática utilizando  $n$  mecanismos de codificación  $P(n)$  para ambas regiones. Se evidencia que para todos los atributos de comportamiento analizados, lo más es probable que las neuronas utilicen un único mecanismo de codificación, exceptuando la variable *Posición Direccional* en H, dando una primera evidencia de que las neuronas se segregan entre distintos mecanismos de codificación. Además todas las distribuciones (a excepción de



**Figura 3.19: Distribución de probabilidad de codificación con  $n$  mecanismos en H.** Distribución de probabilidad  $P_C$  obtenida a partir de los vectores  $(c_r, c_\delta, c_\theta)$ . En el eje  $x$  se muestran las combinaciones de manera creciente en cantidad de mecanismos de codificación utilizados por la población neuronal. En negro se muestra una realización de la distribución independiente que preserva las marginales  $P_{Ci}$ . (A1) Codificación del tiempo. (B1) Codificación de la Posición. (C1) Codificación de la Dirección. (D1) Codificación de la Velocidad. (E1) Codificación de la Posición Direccionada. (F1) Codificación de Velocidad Direccionada. En los paneles inferiores se muestran, para los mismos atributos cinemáticos, la distribución de valores de divergencia de Kullback-Leibler entre la distribución  $P_C$  y múltiples realizaciones independientes (azul). A su vez se presenta la distribución de DKL que resulta al comprar dos realizaciones independientes diferentes (naranja). En la parte superior del gráfico se muestra el p-valor obtenido con un t-test para diferenciar ambas distribuciones.

la nombrada) son equivalentes a las que se obtienen de la distribuciones de codificación de mecanismos aleatoria.



**Figura 3.20:** Distribución de probabilidad condicionada a la codificación con  $n$  mecanismos en CE e H. Distribución de probabilidad  $P(n) = \sum_{P_C / \sum_{c_i=n}} P_C(c_r, c_\theta, c_\delta)$ , donde  $n$  es el número total de mecanismos de codificación utilizados. En negro se muestra la media de un conjunto de realizaciones aleatorias y las barras de error corresponden al desvío estándar. Las subfiguras con índice 1 muestran las distribuciones de CE y las con índice 2 muestran los resultados de H. (A) Codificación del tiempo. (B) Codificación de la posición. (C) Codificación de la Dirección. (D) Codificación de la Velocidad. (E) Codificación de la Posición Direccional. (F) Codificación de Velocidad Direccional.

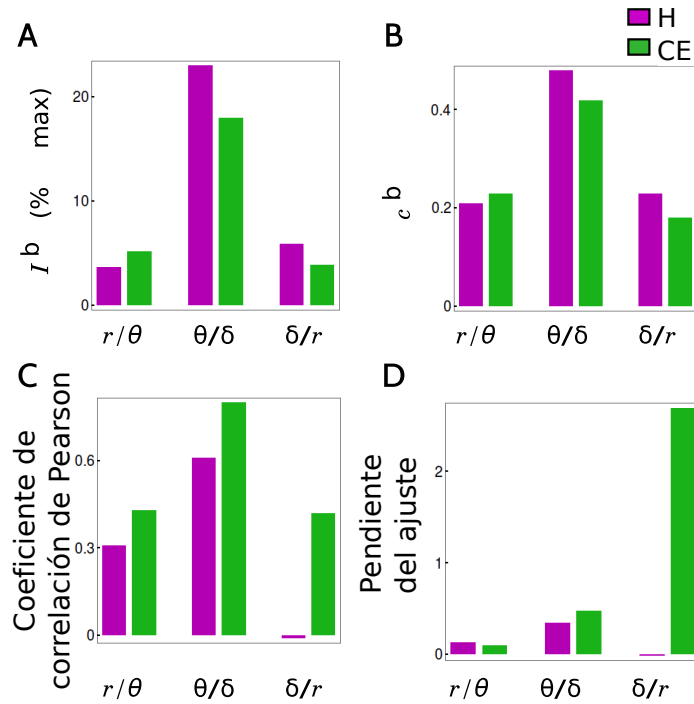
A continuación se analiza la codificación de a pares de mecanismos. A partir de las distribuciones  $P_C(c_r, c_\theta, c_\delta)$  se estima la distribución de probabilidad bivariada  $P_{ij}(c_i, c_j)$ , siendo  $i, j$  pertenecientes al conjunto  $\{r, \theta, \delta\}$ , y se evalúa si esta distribución coincide o no con la hipótesis de independencia, la cual predice que la distribución de probabilidad conjunta es igual al producto de las marginales  $P_{C_i}(c_i) P_{C_j}(c_j)$ . Esta evaluación se realiza computando la información mutua de Shannon  $I^b(C_i; C_j)$  (definida en la Sec. 3.1.8). En ambas regiones cerebrales (H y CE) y con los tres pares de códigos neuronales, se encontraron valores de  $I^b$  significativamente distintos de cero (Figura 3.21A), implicando nuevamente que los códigos de tasa de disparo,  $\theta$  y

*delta* no son independientes. Para determinar si los pares de códigos tienden a coexistir o, por el contrario, tienden a estar segregados en poblaciones disjuntas, se calcula el coeficiente de correlación de Pearson  $c^b(c_i, c_j)$ , obteniéndose siempre valores positivos (Figura 3.21B). El código de tasa de disparos está sólo marginalmente (aunque significativamente) correlacionado con cada uno de los códigos de fase, lo cuál puede estar induciendo las diferencias en la codificación con tres mecanismos presentados en la Figura 3.18 y 3.19. La ocurrencia conjunta del código en *theta* y *delta* es más fuerte, con coeficientes de correlación de 0.5 en H y 0.4 en CE. Parte de esta correlación podría deberse a la relación que tienen los ritmos propiamente dichos, que será abordada en el Capítulo 4 a partir del análisis de acoplamiento entre bandas de frecuencia para el caso de CE.

Luego de determinar que las poblaciones de células que utilizan un código u otro tienen tendencia a coincidir, es posible preguntarse cuán correlacionados se encuentran los valores de información obtenidos con cada mecanismo. Este segundo análisis involucra variables reales (no binarias), que representan el par de valores de información mutua significativa (aquellos con variable binaria igual a uno) respecto a la variable Tiempo transmitida con cualquier par de códigos. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 3.21C. Exceptuando los códigos *delta* y de tasa de disparos en H, todos los coeficientes de correlación de Pearson (CCP) son significativos y positivos. Los valores de información que se encuentran más fuertemente correlacionados son aquellos que involucran a los códigos *theta* y *delta*, con CCP de 0.6 en H, y 0.8 en CE. En ambas áreas, la correlación entre la información por tasa de disparos y cualquier otro mecanismo es menor.

En la Figura 3.21D, se muestra la pendiente del ajuste lineal entre la información codificada para cada par de códigos. Los datos a ajustar se encuentran de a pares  $(x, y)$  con componentes (Información tasa de disparos, Información *theta*), (Información *theta*, Información *delta*), (Información *delta*, Información tasa de disparos). Las pendientes obtenidas en ambas regiones para los pares (tasa de disparos, *theta*) y (*theta*, *delta*) son menores a la unidad, lo que es consistente con el hecho de que los valores de información codificados por neuronas individuales se encuentran normalmente ordenados de la siguiente manera  $\text{Info}(\text{tasa de disparos}) > \text{Info}(\text{theta}) > \text{Info}(\text{delta})$ .

Realizando nuevamente el análisis de la Figura 3.21A,B pero ahora con todas las características cinemáticas diferentes a Tiempo, se obtienen resultados similares en ambas regiones cerebrales de la rata, los valores de información y correlación se mantienen relativamente constantes, o decrecen levemente. Exceptuando el caso de Posición y PosiciónDireccionada en H, para los cuales aumenta la información y la correlación entre el código de tasa de disparos y el de fase en *theta* ( $I^b = 15\%$  y  $19\%$ , y  $c^b = 0,34$  y  $0,43$ , para Posición y PosiciónDireccionada, respectivamente). La inspección visual de la tasa de disparos en estas neuronas revela que están utilizando ambos códigos y se



**Figura 3.21: Grado de superposición entre mecanismos de codificación neuronal.** (A) Información mutua  $I^b(C_i; C_j)$  definida en la Ecuación (3.6). Los valores son relativos a la información máxima posible. (B) Coeficiente de correlación de Pearson  $c_{ij}^b$  definido en la Ec. (3.7). (C) Coeficiente de correlación de Pearson entre la información mutua  $I(i; \text{Tiempo})$  y  $I(j; \text{Tiempo})$  con  $i$  y  $j$  en  $\{r, \theta, \delta\}$ . (D) Pendiente del ajuste lineal que vincula los valores de información obtenidos con ambos códigos. En (C,D) sólo se incluyen las neuronas con cantidad de información significativa con ambos mecanismos de codificación.



corresponde con células de lugar cuya fase de disparos precede en *theta* (ya conocidas células de precesión de fase).

Además, al repetir el análisis de la Figura 3.21A,B utilizando las demás características cinemáticas, el resultado es aproximadamente el mismo que en el tiempo, pero con valores ligeramente menores para la correlación entre la información de tasa de disparos y la información de fase, pero con correlaciones mayores para los dos códigos de fase.

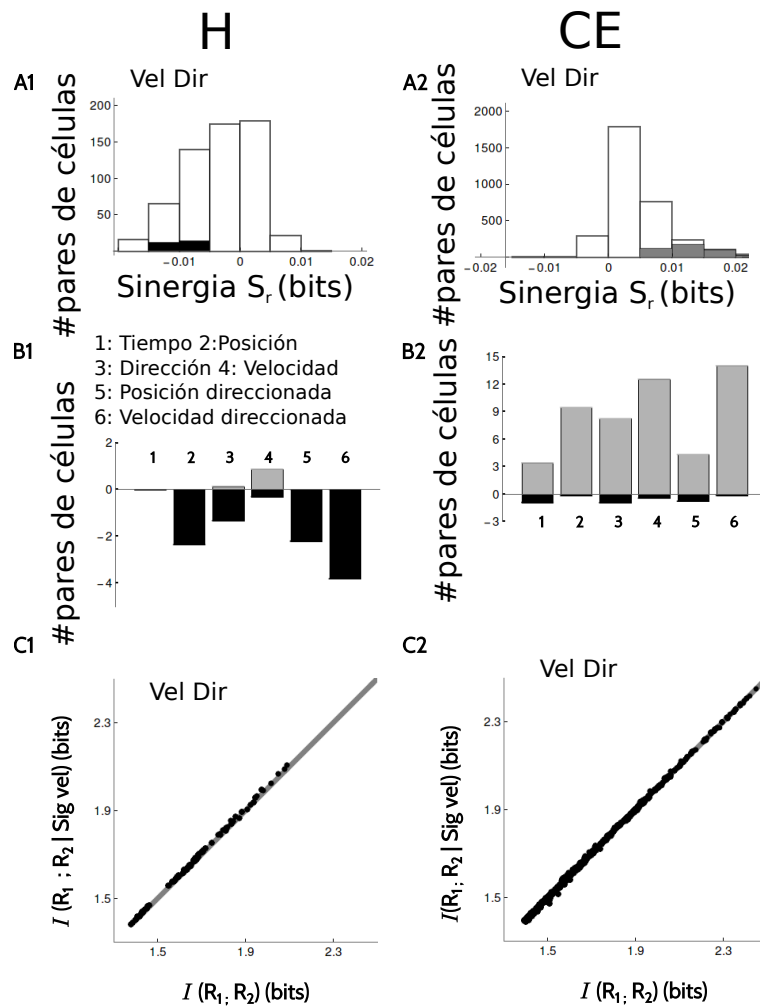
### 3.2.8. Codificación de variables cinemáticas por grupos de neuronas

Es posible preguntarse si los pares de neuronas que son registradas en simultáneo codifican información de manera sinérgica, independiente o redundante. Específicamente, si la información codificada en el par respecto a las variables cinemáticas es igual (independencia), mayor (sinergia) o menor (redundancia) que la suma de las informaciones codificadas por cada uno de los miembros del par [59, 61, 62]. Este análisis sólo se realizó con el código de tasa de disparos. Realizar un análisis de este estilo para el código de fases es complicado debido a la cantidad de segmentos temporales que se encuentran indefinidos por la ausencia de disparos. El conjunto de segmentos vacíos varía de neurona a neurona, por lo que el espacio para definir la distribución de probabilidad conjunta no se encuentra robustamente muestreado. En cambio, el código de tasas de disparos se encuentra definido para todos los segmentos temporales.

Para el caso de pares de neuronas, es posible modelar la distribución de probabilidad de que dos neuronas con tasas de disparos  $r_1$  y  $r_2$  con una distribución gaussiana bidimensional  $P(r_1, r_2 | \text{Tiempo})$ , caracterizada por dos valores medios, dos varianzas y un coeficiente de correlación. Todos los parámetros pueden ser estimados de los datos experimentales.

En la Figura 3.22A1,A2, se presentan los histogramas de los valores de sinergia (definida en la Sec. 3.1.9) obtenidos para H y CE, respectivamente, para el ejemplo de la variable Velocidad Direccional. Resultados similares se observaron con otras variables cinemáticas. En este caso, la mayoría de los valores no son significativos. En hipocampo algunos pares de neuronas son significativamente redundantes, y en corteza entorrinal, algunos pares de neuronas son significativamente sinérgicos. En los paneles B1-B2 se muestran los porcentajes de pares de neuronas en cada área con cantidad significativa de sinergia (valores positivos) o redundancia (valores negativos) para diferentes atributos cinemáticos. En H (Figura 3.22B1), los pares de neuronas son siempre redundantes, excepto para la codificación de dirección de movimiento. En CE (Figura 3.22B2) se encuentran tanto pares redundantes como sinérgicos, con preferencia por la sinergia. Sin embargo, en ambas regiones la fracción de células con cantidad significativa de sinergia (positiva o negativa) es pequeña. Además, para todos

los estímulos cinemáticos, los valores de sinergia son chicos en comparación a los valores de información mutua codificada por cada uno de los miembros del par. De hecho, en Schneidman [62] se muestra que si  $R_1$  y  $R_2$  son las tasas de disparos de dos células en un par y  $S$  es un dado atributo cinemático, entonces  $S_r = \langle I(R_1; R_2|S) \rangle_S - I(R_1; R_2)$ . Por lo tanto,  $S_r$  en un dado par es igual a la distancia entre el dato y la diagonal presentada en la Figura 3.22C1,C2. El conjunto de puntos no se desplaza significativamente de la diagonal, demostrando que, incluso para pares con cantidades de sinergia significativa, tal magnitud es una pequeña fracción de los valores totales de información.



**Figura 3.22: Cantidad de sinergia y redundancia entre los pares de neuronas.** (A1,A2) Histogramas con la cantidad de sinergia  $S_r$  definida en la Ecuación (3.8) en pares de neuronas registradas en simultáneo en H y CE para la velocidad direccionada con el código de tasa de disparos. Los valores significativos se marcan en gris y negro, dependiendo del signo. (B1,B2) Porcentajes de los pares de neuronas que codifican cantidad de sinergia significativa en los 6 atributos de comportamiento analizados. Negro y gris: codificación redundante y sinérgica, respectivamente. (C1,C2)  $\langle I(R_1; R_2|S) \rangle_S$  vs  $I(R_1; R_2)$  para  $S = \text{sig vel}$ . Cada punto representa un par de neuronas. La sinergia  $S_r$  es igual al desplazamiento de la diagonal.

### 3.3. Discusión

Se ha explorado el código neuronal mediante el cual poblaciones de neuronas en H y en CE representan la información cinemática. Particularmente se probaron tres mecanismos diferentes de codificación, uno basado en la tasa de disparos de células en una ventana temporal de 1 segundo, y dos basados en la fase instantánea de disparos con respecto al potencial de campo local filtrado en las bandas *theta* y *delta*. Los códigos de tasa de disparos se han observado en múltiples regiones del sistema nervioso, con o sin estructura temporal fina [36, 38]. En cambio, los códigos de fase son relativamente nuevos, y hasta ahora, sólo se ha reportado el código en bandas *theta* [15, 16] y *delta* [63, 64]. Dos estudios teóricos [65, 66], y uno experimental [67] también han identificado un posible mecanismo mediante el cual el código de fases puede traducirse a un código de patrones de tasas de disparos en neuronas que disparan ráfagas de alta frecuencia (*bursts*).

El código de tasa de disparos recluta mayor número de células y transmite mayor cantidad de información que los otros dos códigos analizados. La estrategia para estimar valores de información con tasa de disparos es diferente de la estrategia para estimar información en códigos de fases dado que en el primer caso se ajusta una distribución gaussiana, y en el segundo se ajusta una distribución de Von Mises. Además, todos los segmentos temporales contribuyen a la distribución gaussiana, pero no todos contribuyen a la distribución de Von Mises, debido a que la última requiere un número mínimo de disparos. Por lo tanto, las estimaciones de información obtenidas con tasa de disparos incluyen todos los segmentos temporales, mientras que los códigos de fase incluyen un número menor. Debido a estas diferencias, las comparaciones entre valores obtenidos con diferentes mecanismos de codificación deben realizarse con precaución, dado que los métodos de estimación son diferentes. Sin embargo, el código de tasas de disparos sobrepasa a los códigos de fase tanto en número de células como en magnitud.

Los valores de información en los códigos *delta* y *theta* son en cambio computados con el mismo método, siendo la única diferencia el hecho de que los registros se seleccionaron en base a un criterio de calidad del potencial de campo local filtrado en la banda *theta* [68]. La similitud entre ambos métodos, y el conocimiento explícito de que como mucho el código en *delta* se encuentra en desventaja, permite concluir que, si bien la información contenida en el código *delta* es menor que en el código *theta*, no por eso es despreciable. En ambas regiones del lóbulo temporal el código en *delta* se encuentra principalmente involucrado en la codificación de la variable Tiempo, identificando momentos específicos del trayecto que no pueden asociarse a atributos típicos como posición, velocidad o dirección.

Los tres mecanismos de codificación tienden a ser más informativos en células con bajas tasas de disparo (Figura 3.8A–C). Esta propiedad sugiere que las células pira-

midales se encuentran más involucradas en la codificación de atributos cinemáticos que las interneuronas. Por otro lado, la varianza circular con respecto al potencial del campo filtrado en *theta* (Figura 3.8D–F) no es un buen predictor de la información codificada. El mismo resultado se obtiene analizando la varianza circular con respecto al potencial de campo filtrado en *delta*. Por lo tanto, se concluye que los tres mecanismos de codificación reclutan células con bajas tasas de disparo medias, y con grado de sincronización variable a la señal *theta* o *delta*.

El código de tasa de disparos recluta aproximadamente la mitad de las neuronas en las dos áreas analizadas en la codificación de Tiempo. Los códigos *delta* y *theta* reclutan aproximadamente 25 % y 15 % de las células, respectivamente. En el caso de Posición y Posición Direccionada, los porcentajes de tasa de disparos alcanzan 60–80 % de las células. Estos valores son mayores que los que se reportan normalmente en estudios tradicionales, en los cuáles las variables cinemáticas caracterizadas por atributos bien definidos como posición, dirección de cabeza o velocidad. Además, el código neuronal hipocampal es normalmente asociado con células de lugar y el entorrinal con células grilla, y la fracción reportada de células destinadas a estos códigos es mucho más baja, alrededor del 20 % [20, 48]. Pero, aunque los mapas de disparos de células de lugar son muy marcados, los códigos selectivos a la posición no tienen por qué restringirse a estas células. El alto porcentaje de células que codifican una cantidad significativa de información sobre posición encontrada en este estudio, y también en otros con enfoques similares [47, 48], sugiere que existe un repertorio más amplio de estrategias de codificación, que no se limitan a células grilla o células del lugar.

La Figura 3.21 presenta evidencia de que, para cualquier par de códigos, la probabilidad de que una célula utilice un par de mecanismos de codificación es mayor al producto de las marginales. Las restricciones de normalización implican que la probabilidad de que una célula no utilice ninguno de los mecanismos de codificación es también mayor a la que puede predecirse asumiendo poblaciones independientes. Se puede concluir que las neuronas no se encuentran segregadas en subpoblaciones de tasa de disparos, *theta* o *delta*, sino que se encuentran separadas más bien en células informativas y no informativas. La co-ocurrencia de los códigos *theta* y *delta* es marcada, para el cual también los valores de información se encuentran correlacionados. La co-ocurrencia es mayor cuando se comparan las células que utilizan el código de tasa de disparos con alguno de los códigos de fase, exceptuando las neuronas que tienen precesión de fase en H, en la codificación de Posición Direccionada, donde el código de tasa de disparos y fase en *theta* se encuentran altamente correlacionados. En términos generales, la población informativa incluye una subpoblación de neuronas de fase, en las cuales los códigos *delta* y *theta* se superponen bastante. En este contexto, las neuronas parecen ser adecuadas o inadecuadas para utilizar un código de fase, pero no altamente selectivas a la banda de frecuencia en cuestión (al menos no entre las dos

bandas analizadas en este trabajo).

El código de tasa de disparos es aquel en el cual la conjunción de atributos (como Posición+Dirección o Velocidad+Dirección) es más sinérgica. Además, la cantidad de sinergia entre atributos es comparable con la cantidad de información codificada en las variables con direccionalidad. Se concluye entonces que en ambas regiones (H y CE), la posición y la velocidad se encuentran mayoritariamente codificadas de manera conjunta con la dirección de movimiento en el código de tasa de disparos. La misma conclusión puede observarse para los códigos de fase, aunque los valores de información son menores.

Al analizar la cantidad de sinergia codificada en la tasa de disparos de pares de neuronas registradas en simultáneo, se encuentran pequeñas diferencias en sinergia y redundancia en ambas regiones del cerebro. Sin embargo, estas diferencias son muy pequeñas para ser consideradas significativas. Se concluye entonces que la información respecto a las variables cinemáticas analizadas se codifica de manera mayormente independiente. Además, con los códigos de fase, se obtiene que regionalmente la probabilidad de codificar múltiples atributos cinemáticos en grupos de neuronas cercanos es similar al resultado que se obtiene si la codificación conjunta siguiera una distribución donde la codificación en las neuronas es independiente. En cambio, con el código de tasa de disparos, el resultado en codificación simultánea regional muestra que existe una correlación entre neuronas cercanas en la codificación variables cinemáticas, particularmente en el caso de la variable Dirección.



## 4

# Propiedades de ritmos colectivos durante navegación espacial

El conjunto de actividades neuronales que co-ocurren en distintas regiones del cerebro generan un comportamiento emergente colectivo que se evidencia como una señal oscilatoria. Esta oscilación es el resultado de la actividad neuronal subumbral (que no genera potenciales de acción) y supraumbral (disparos neuronales). Como se ha descrito en el Capítulo 3, las neuronas pueden a su vez estar coordinadas o sincronizadas a distintas bandas de frecuencia.

Diferentes evidencias sugieren que las oscilaciones extracelulares, además de tener roles funcionales específicos [69], podrían ser un mecanismo general de comunicación entre diferentes áreas del cerebro [70] y, a su vez tener un rol importante en la coordinación de actividades que suceden a diferentes escalas temporales. En particular, las oscilaciones rápidas son asociadas a propiedades y procesamiento de carácter local, mientras que a las oscilaciones más lentas se las considera posibles medios de comunicación entre regiones distantes [71, 72]. Los mecanismos que rigen esta comunicación no son universales y existen múltiples vías para que se produzca el flujo de comunicación a través de regiones y escalas temporales. Algunas de las propiedades más estudiadas para tal fin son coherencia o sincronización de fase entre ritmos o acoplamientos de diferentes tipo (amplitud-amplitud, fase-amplitud, fase-fase) entre bandas de frecuencia [73–76].

Típicamente los ritmos más estudiados en cada región cerebral suelen corresponderse con aquellos que son los predominantes y que, de hecho, describen el comportamiento del sistema en ese momento. Sin embargo, el análisis de ritmos no predominantes puede mostrar posibles contribuciones a los mecanismos de codificación existentes en el ritmo extracelular. Por ejemplo, los estudios de banda *gamma* durante navegación espacial en hipocampo y corteza entorrinal muestran que la frecuencia de la oscilación se modifica con la velocidad de movimiento [77, 78]. Diferenciando *gamma* alto (65 – 100Hz) y

*gamma* bajo (40 – 60Hz), estas oscilaciones juegan un rol diferente en la codificación de información en navegación espacial [79]. También en lo que refiere a coordinación de distintas escalas temporales se ha mostrado que el acoplamiento entre las bandas *theta* y *gamma* hipocampales depende de la velocidad de movimiento [80], o que el mismo es dinámico en tareas de toma de decisiones [81] y memorización [82].

El objetivo de este capítulo es evaluar en qué medida el ritmo *delta* (1,5 – 4 Hz) se encuentra también modulado por estados del comportamiento en señales registradas en la corteza entorrinal (CE) de ratas durante la tarea de navegación espacial en un protocolo de velocidad controlada descrito en el Capítulo 2.

En el sistema hipocampal, el ritmo *delta* se ha estudiado como un camino de comunicación entre las regiones CA1 de hipocampo, VTA y corteza prefrontal (PFC), encontrándose que la comunicación desde CA1 hacia PFC podría alcanzarse mediante coherencia de fase entre el ritmo *theta* de CA1 y el ritmo *delta* de PFC [83]. Otros estudios sugieren el rol fundamental del nucleus reuniens del tálamo [84] para mediar comunicación desde PFC hacia CA1 vía acoplamiento de fase entre las señales de 2-5 Hz con *theta*. Sin embargo, ningún estudio ha mostrado hasta ahora propiedades del ritmo lento dentro del propio sistema hipocampal, ni vinculado en dichos estudios a la corteza entorrinal.

La corteza prefrontal se considera un área vinculada a la planificación de procesos complejos e integración de procesos cognitivos [85], mientras que las oscilaciones *delta* son normalmente asociadas a un circuito relacionado a las recompensas [86, 87]. La vinculación entre estas dos afirmaciones se ha mostrado en [88] donde se evidencia que el circuito prefrontal-talámico-hipocampal se encuentra directamente relacionado a un circuito orientado a objetivos. En este caso la alteración del circuito produce modificaciones en la actividad prospectiva en células de lugar durante una tarea de toma de decisiones con recompensa.

Mientras que el hipocampo tiene proyecciones con la corteza prefrontal únicamente vía el tálamo, la corteza entorrinal tiene aferencias directas desde y hacia PFC, por lo que resulta un sistema interesante para estudiar. Diversos estudios han demostrado que en corteza entorrinal (al igual que en CA1/CA3 del hipocampo [89, 90]) la potencia en la banda *theta* se encuentra correlacionada con la velocidad de movimiento del animal. Además, las propiedades espectrales del pico en banda *theta* cambian al modificar el estado de estático a movimiento: cambia la frecuencia a la cual se encuentra el pico dentro de la banda y se incrementa la potencia en los armónicos siguientes (de manera que la señal se vuelve más rápida y también más triangular) [91]. Por otro lado, también ha sido ampliamente estudiado en las regiones CA1 y CA3 del hipocampo, y en CE el acoplamiento entre la banda de baja frecuencia *theta* y la de alta frecuencia *gamma* (*gamma* alto y *gamma* bajo). La descripción del acoplamiento entre oscilaciones *theta* y *gamma* ha ayudado enormemente a comprender la localidad de algunos fenómenos



que ocurren con cierta rapidez y que acoplan a un ritmo más lento involucrándose en procesos de alocación y evocación de memoria [92].

Conociendo la evidencia de que el mecanismo de comunicación entre el sistema de planificación (CPF) y el sistema de navegación (sistema hipocampal) se encuentra mediado por oscilaciones lentas (2 – 5Hz) e involucrado directamente en la navegación hacia objetivos; y que, a su vez, la corteza prefrontal tiene comunicación directa con el circuito entorrinal (el cual según [93] está directamente involucrado en la navegación hacia objetivos), resulta válido preguntarse si:

1. existe una señal de onda lenta significativa en el sistema entorrinal;
2. en tal caso, se encuentra relacionada con el comportamiento del animal;
3. existe correlación alguna entre dicha señal y el ritmo de navegación theta;
4. de existir dichas correlaciones se encuentran moduladas por el comportamiento o son independientes del mismo;
5. existen evidencias que vinculen estas modulaciones con la navegación orientada a objetivos o recompensas mediante la vinculación a un posible aprendizaje de la tarea.

Para responder a estas preguntas se recurre al análisis de señales registradas en corteza entorrinal (CE) durante navegación espacial en los protocolos en donde las ratas deben correr en un trayecto lineal con un esquema de velocidad predeterminado. Como se describió en el Capítulo 2, en algunos casos el protocolo es siempre el mismo de manera que puede ser aprendido, y en otros casos el protocolo es aleatorio. A lo largo de este capítulo se mostrarán evidencias que sugieren la importancia del **ritmo delta** durante la navegación espacial. Se identificarán los rasgos del ritmo que están modulados por el comportamiento del animal. Además se presentarán resultados que muestran que el ritmo *delta* se encuentra correlacionado con el ritmo predominante *theta*, y que la intensidad de dicha relación se encuentra determinada por el estado de movimiento. Se presentará un análisis sistemático en múltiples variables de comportamiento para decidir cuáles son las características cinemáticas que más afectan tal correlación, y cuáles son el resultado de un proceso de aprendizaje.

## 4.1. Materiales y métodos

Para el desarrollo del presente capítulo se utilizaron registros de corteza entorrinal correspondientes a seis ratas que atraviesan diferentes protocolos de navegación espacial. Se utilizan herramientas de procesamiento de señales que corresponden a filtros,

transformaciones y análisis de sincronización que se describen en las siguientes secciones. Además se realiza una reorganización de los datos para tomar los segmentos que, en las múltiples repeticiones del experimento, corresponden a la misma colección de estados comportamentales.

La selección de registros resulta en un total de 700 repeticiones para el protocolo exponencial y 550 repeticiones en el protocolo cuadrado.

#### 4.1.1. Cantidad de energía espectral para diferentes comportamientos

De la misma manera que en el capítulo anterior, para analizar la amplitud de las oscilaciones *theta* (6–12 Hz) y *delta* (1.5–4 Hz) del potencial de campo local se realiza un filtrado utilizando un filtro pasa bandas (FIRfilter).

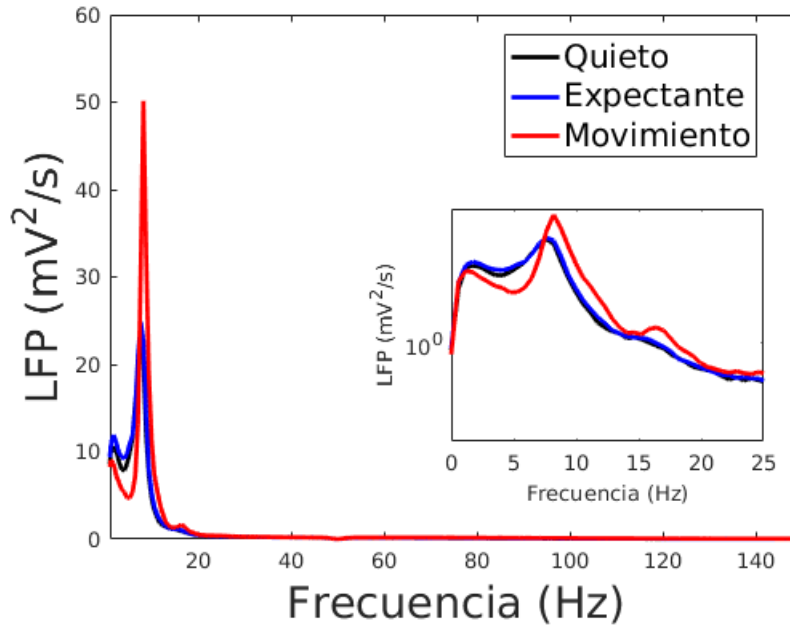
En corteza entorrinal el espectro contiene un máximo marcado en la banda *theta* en todos los estados del movimiento del animal: reposo (cuando la rata simplemente está comiendo su recompensa y no está expectante al experimento), expectación (entre que suena el timbre y empieza la corrida), y movimiento (el período de corrida). Para todos los estados del comportamiento se mantiene también un alto porcentaje de potencia en la zona asociada a banda de frecuencia *delta*. Sin embargo, al cambiar la condición comportamental, el pico del ritmo *delta* no modifica significativamente su intensidad o su posición, sino que lo que cambia es la potencia total (integral).

La Figura 4.1 muestra un ejemplo de la transformada de Fourier (FFT) separando las condiciones mencionadas. Para realizar este análisis se separan los diferentes segmentos de cada comportamiento, se concatenan las diferentes partes de cada repetición correspondientes a cada período de actividad en un día de registro y se computa la transformada de Fourier. Luego se realiza el promedio de las transformadas en diferentes condiciones a lo largo de distintos días de registro. El análisis espectral se realiza utilizando transformadas de Fourier rápidas con  $2^{13}$  puntos en el espacio de frecuencias.

La cuantificación de la cantidad de energía espectral para una banda de frecuencia puede computarse con la integral del espectro en cada uno de los segmentos que definen las bandas: *delta* ([1,5 – 4]Hz), *theta* [6 – 12]Hz, *gamma* [40 – 100]Hz). La fracción en cada banda se obtiene dividiendo el valor integral por el la integral total del espectro.

En este trabajo se analizan los espectros de potencias en diferentes condiciones de velocidad. Para computar una medida confiable del espectro de potencias en distintos comportamientos se agrupan los segmentos del experimentos correspondientes a un mismo estado cinemático de diferente manera según el protocolo en cuestión, y sobre ellos se calcula la transformada de Fourier. La Figura 4.2 muestra la segmentación en grupos de velocidades para los perfiles de exploración exponencial y cuadrados.

Para el protocolo exponencial se separan los 6s correspondientes al período de alar-

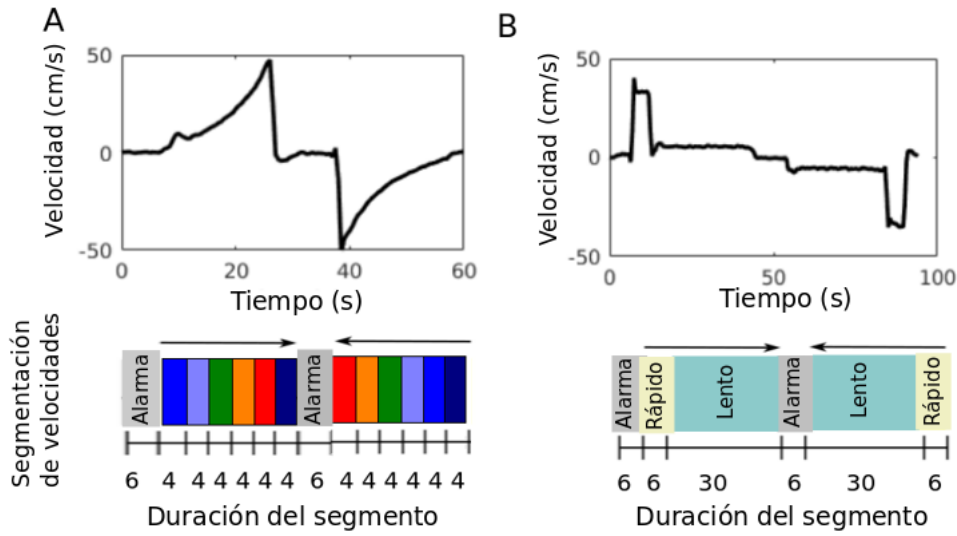


**Figura 4.1: Transformada de Fourier (espectro) para distintos comportamientos .** Espectro de frecuencias de la señal en MEC durante diferentes condiciones de comportamiento. Se muestran las medias de las transformadas obtenidas en diferentes días de registro calculadas con  $2^{13}$  puntos para datos dentro del protocolo cuadrado. Inset: ampliación del sector de frecuencias de interés con eje y en escala logarítmica.

ma del período previo a la alarma; y los 20s restantes correspondientes al intervalo de movimiento se dividen en 5 segmentos de 4s cada uno. La FFT se computa para cada segmento y luego se promedian los valores absolutos de dicha transformada. Se reportan los valores medios, donde los errores de la media son pequeños dado la gran cantidad de fragmentos promediados (700). En el caso del protocolo cuadrado, se separan los datos en cuatro segmentos: el primero correspondiente al período previo a la alarma, el segundo correspondiente al período de alarma y los otros dos correspondientes a velocidad rápida y lenta. Al igual que para el protocolo anterior, se computará la FFT para cada segmento y se reportan los valores medios, resultado de promediar 550 repeticiones en cada caso.

Para el protocolo aleatorio se separan todos los segmentos que corresponden a una misma velocidad, considerando únicamente los que corresponden a los intervalos en el trayecto [100-200]cm y [200-300]cm, y sobre dichos segmentos se realiza el mismo procedimiento mencionado de computar la FFT y se promedian los valores absolutos.

En el caso de la navegación libre cualquier movimiento esporádico de la cabeza puede introducir falsos positivos en el movimiento (por los filtros sobre la posición que se utilizan), o velocidades mayores a las reales. Por este motivo se considera que todo movimiento con velocidad instantánea menor a 2cm/s corresponde a un período de quietud. Para separar la señal se concatenan (en el LFP original) todos aquellos segmentos que corresponden a la rata navegando a velocidades en el intervalo  $[v_1, v_2)$



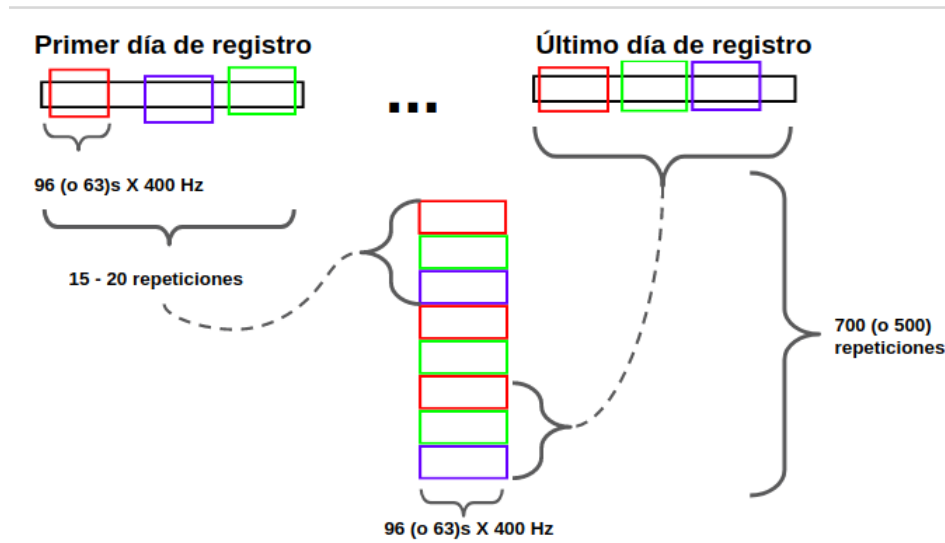
**Figura 4.2: Segmentación de los protocolos de velocidad.**(A) Perfil de velocidad del protocolo exponencial con su correspondiente segmentación en dos velocidades. (B) Perfil de velocidad del protocolo cuadrado con su correspondiente segmentación en varias velocidades.

durante un período mayor a 2s. Luego se computa una única FFT para cada velocidad y se reporta su correspondiente espectro. Los rangos de velocidades utilizados son  $[0, 2)\text{cm/s}$ ,  $[2, 5)\text{cm/s}$ ,  $[5, 15)\text{cm/s}$ ,  $[15, 25)\text{cm/s}$ ,  $[25, 50)\text{cm/s}$ .

#### 4.1.2. Modulación en la amplitud de las señales filtradas

Para analizar la modulación temporal de las señales filtradas en bandas *theta* y *delta* se promedian las señales eléctricas en diferentes realizaciones del experimento. Dado que estas señales son naturalmente oscilatorias que cruzan por cero, es necesario utilizar una medida que sólo considere la envolvente, que es estrictamente positiva. Para calcular la amplitud envolvente en cada banda se utiliza el valor absoluto de la transformada de Hilbert. La transformada de Hilbert se aplica a la señal filtrada y permite definir la parte imaginaria de una serie temporal real. En esta nueva señal la parte real es la señal original y la parte imaginaria es la transformada de Hilbert de la misma. La señal compleja puede a su vez escribirse en coordenadas polares para obtener un módulo (al cual llamaremos amplitud) y una fase. Para tener una clara interpretación de fase y amplitud obtenidas con el método de transformada de Hilbert es necesario trabajar con un banda de frecuencia angosta [94].

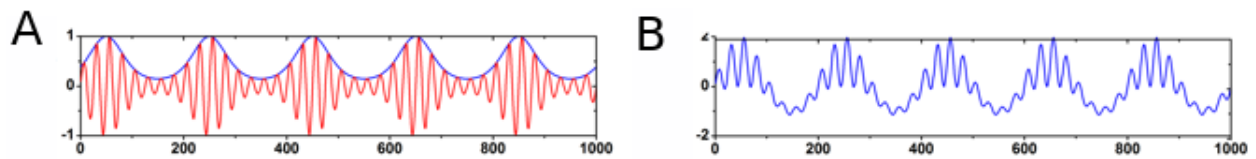
El procedimiento utilizado consiste en primero se computar las transformadas de Hilbert del potencial de campo filtrado en bandas *theta* y *delta* para cada día de registro. A continuación se toman los valores absolutos (envolvente) y se normalizan las amplitudes de la transformada de Hilbert en cada banda al máximo durante ese día de registro ( a esto se lo llama *amplitudes normalizadas*); luego se realiza una segmentación temporal recortando segundos del experimento. Este punto es importante



**Figura 4.3: Agrupación de repeticiones del experimento.** Ejemplificación cualitativa de diferentes días de registro y repeticiones del experimento. Con colores se muestran las repeticiones de un trayecto de ida y vuelta en el carrito.

debido a la no-localidad de la transformada de Hilbert. Realizar el procedimiento en el sentido opuesto (primero la segmentación y luego la transformada) introduce efectos de borde severos [95] y puede llevar a resultados espurios.

La segmentación temporal consiste en recortar y reagrupar todos los segmentos temporales de 1s de duración correspondientes al mismo segundo en las repeticiones del experimento. La reagrupación de datos se representa, para cada banda de frecuencia, con una matriz de tamaño  $700 \times (400 \times 62)$  para el caso del protocolo exponencial, donde las 700 filas son repeticiones del experimento, 400 es la frecuencia de muestreo (después de submuestrear la señal original) y 62 segundos es el tiempo de duración del protocolo considerando la siguiente secuencia para la corrida hacia la derecha: 1s previo a la alarma, 6s de duración de la alarma, 20s de protocolo de movimiento, 4s posteriores al protocolo, y lo mismo con el regreso. Para el caso del protocolo cuadrado los datos reagrupados se representan con una matriz de tamaño  $550 \times (400 \times 96)$ , donde 96 corresponde a la duración de una realización completa del protocolo: 1s previo a la alarma, 6s de duración de la alarma, 6s de navegación rápida, 30s de navegación lenta, y 4 al finalizar el trayecto, y lo mismo en el regreso. La Figura 4.3 muestra cómo se agrupan los datos. Finalmente se realiza un promedio de todas las realizaciones con la segmentación anterior. Si se observa modulación en el tiempo dada por este análisis, la misma puede ser resultado de múltiples aspectos del comportamiento (velocidad, posición, dirección o aceleración) al igual que la información respecto a la variable tiempo en el Capítulo 3 puede deberse a información respecto a otras variables cinemáticas. En este caso, conociendo la evidencia respecto a amplitud y potencia en la banda *theta* que dependen de la velocidad de corrida del animal, se propone realizar un análisis buscando las propiedades de la señal en banda *delta* que dependen de esta misma variable



**Figura 4.4: Ejemplos de formas de señales acopladas.** (A) Acoplamiento por batido: señal modulada (rojo) y señal moduladora (azul). (B) Otro acoplamiento. Imagen adaptada de *A Precise Annotation of Phase-Amplitude Coupling Intensity* [96].

cinemática.

La modulación respecto a la velocidad se obtiene reagrupando los segmentos temporales en segmentos de velocidad. Para el caso del protocolo cuadrado, la reagrupación se hace de manera similar a la presentada en la Sec. 4.1.1 para el análisis en el espacio de frecuencias.

### 4.1.3. Acoplamiento fase-amplitud entre bandas *delta* y *theta*

La modulación fase-amplitud de dos señales puede darse de dos formas diferentes: un batido entre dos señales de distinta frecuencia (Figura 4.4A) o una señal de alta frecuencia que sólo aparece en algunos momentos particulares de la señal de baja frecuencia (Figura 4.4B), como resulta el ya conocido acoplamiento fase-amplitud entre las bandas *theta* y *gamma* durante navegación espacial.

El acoplamiento fase-amplitud entre oscilaciones neuronales ha sido descrito en múltiples trabajos que involucran variadas especies (humanos, ratones, ratas), y se ha propuesto como un mecanismo que tiene un rol en la ejecución de tareas cognitivas [97].

La amplitud y la fase de un oscilador no lineal se encuentran intrínsecamente relacionadas. Particularmente, si fase y amplitud se definen analíticamente a partir de la transformada de Hilbert las mismas no resultan independientes [95]. Este fenómeno hace que sea difícil determinar si la fase de un oscilador y la amplitud de otro se encuentran directa o indirectamente relacionadas, es decir via acoplamiento fase-fase o fase-amplitud. Por este motivo es necesario ser cuidadoso a la hora de asignar un rol funcional al tipo específico de acoplamiento medido.

Además de la existencia de una cantidad significativa de potencia en la banda de baja frecuencia para el estudio del acoplamiento es importante la selección de un ancho de banda adecuado. Según [95]: un ancho de banda muy angosto puede resultar en una fase periódica suave pero que no representa las propiedades subyacentes de la señal oscilatoria, mientras que una banda muy amplia puede incorporar discontinuidades o inversiones. Entonces, la elección del ancho de banda de la señal de fase se encuentra

determinada por la posibilidad de obtener una fase significativa en el tiempo, mientras que en la señal de amplitud el ancho de banda tiene que ser lo suficientemente amplio como para incluir las frecuencias  $f_2 = f_0 - f_1$ , donde  $f_0$  es el centro de la banda de señal de amplitud y  $f_1$  el centro de la banda de señal de fase; en caso contrario pueden obtenerse falsos negativos en el acoplamiento [95].

Por otro lado, cambios en el acoplamiento pueden deberse simplemente a modificaciones en la potencia espectral. Esto se explicaría si, por ejemplo, cambios en el espectro de potencias producen cambios en la relación ruido-señal que modifican las correlaciones entre las variables fase y amplitud. Es necesario entonces, verificar que en todas las condiciones de comportamiento analizadas se cumple que existe potencia en las dos bandas de interés, como se muestra en la Sec. 4.1.1; y además que las bandas de frecuencia seleccionadas cumplan con los requisitos necesarios mencionados en el párrafo anterior. Dado que las bandas *delta* y *theta* son muy cercanas, y cercanas de cero, la segunda condición debe implementarse cuidadosamente para no llegar a filtros que incluyan frecuencia negativa.

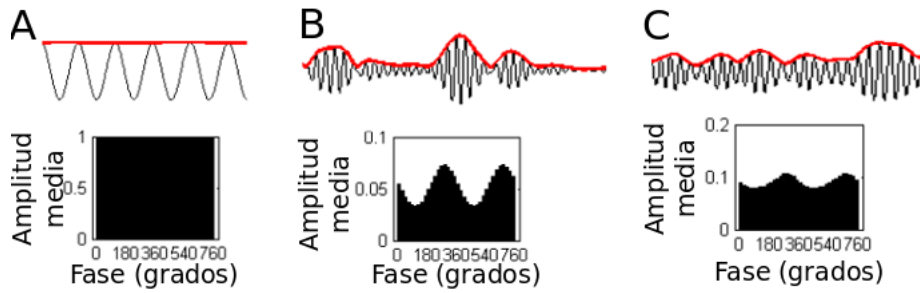
Finalmente, las no estacionariedades propias del estímulo que le llega a una población neuronal puede introducir cantidades significativas de acoplamiento entre bandas que no tienen bases fisiológicas, sino que son simplemente consecuencia de las características propias del estímulo. Por esto es importante realizar un análisis en condiciones donde los estímulos se consideran relativamente estacionarios (como serán los protocolos de velocidad constante); y además considerar los posibles análisis de subrogados y test estadísticos para diferenciar las condiciones del comportamiento.

Existen diferentes métodos para detectar un acoplamiento entre dos bandas de frecuencia de una señal temporal. Este trabajo se centra en la medida propuesta en Tort [98] llamada índice de modularidad (MI), debido a que su valor es independiente de las amplitudes de las señales oscilatorias involucradas. Por ello resulta una buena candidata para ser utilizada en un experimento donde las amplitudes de las señales fluctúan en las diferentes condiciones. Cabe destacarse que utilizando la medida de valor de sincronización de fase (*phase locking value*: PVL) se obtuvieron resultados similares.

### Índice de modularidad y comodulograma

El índice de modularidad [98] consiste en utilizar la divergencia de Kullback-Leibler (Ec. 4.1) como medida de distancia entre la distribución empírica de amplitudes de una señal de alta frecuencia sobre las fases de una de baja frecuencia y la distribución uniforme.

$$D_{KL}(p||q) = \sum_x p(x) \log\left(\frac{p(x)}{q(x)}\right) \quad (4.1)$$



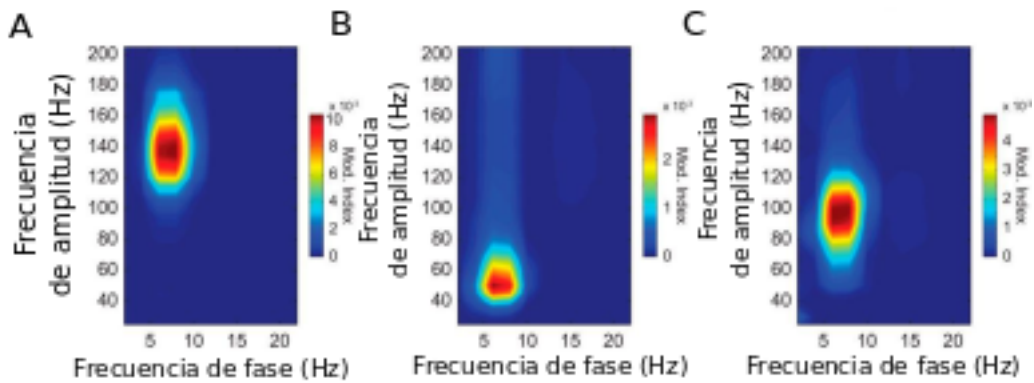
**Figura 4.5: Ejemplos de histogramas de modularidad.** En la parte superior se muestra la señal cruda con su envolvente y en el panel inferior el histograma de modularidad que se computa a partir de la media de las amplitudes de la señal filtrada en la banda de alta frecuencia como función de la fase de la señal filtrada en la baja frecuencia. (A) Señales no acopladas (B) Acoplamiento grande. (C) Bajo acoplamiento.

En la Ec. 4.1 se mide la distancia entre las distribuciones de probabilidad  $p$  y  $q$ , donde ambas se encuentran definidas en el mismo dominio y sus realizaciones toman valores  $x$ . En el caso del índice de modularidad, la distribución  $q$  se define como homogénea para todos los valores de fase. La cantidad de fases (segmentación de las fases) puede modificarse, en este caso se trabaja con 20 segmentos de  $\frac{2 \times \pi}{20}$ . La entropía de  $q$  es entonces  $\text{Log}(20)$ . La Figura 4.5 muestra ejemplos de los *histogramas de modularidad* para  $p$  que se obtienen con distintos niveles de acoplamiento. Se observa que mientras más grande es el acoplamiento más intensa es la ondulación sinusoidal que muestra el histograma de modularidad.

La divergencia de Kullback-Leibler tiene un sesgo positivo cuando se computa con un número limitado de ejemplos [99]. Como se reporta en [98], señales temporales cortas (con pocos ciclos oscilatorios de la señal de baja frecuencia) producen sobreestimaciones en el valor del índice de modularidad, al igual que ocurre con las medidas de información que se encuentran positivamente sesgadas cuando los histogramas a partir de los cuáles se define la distribución de probabilidad no se encuentran correctamente estimados. Es importante entonces realizar el análisis utilizando segmentos temporales suficientemente largos de manera de disminuir el sesgo y, para asegurar la significancia de los valores computados, realizar un test estadístico utilizando subrogados.

El índice de modularidad puede computarse tomando bandas de frecuencia de a pares. Para hacer extensivo el análisis a todas las bandas, o cuando se desconoce cuáles son las bandas de fase y amplitud de interés, se realiza un barrido en frecuencias de a pares y se computa el MI por cada par. El resultado se reporta mediante una matriz bidimensional en código de colores como se muestra en la Figura 4.6 que presenta los acoplamientos entre múltiples pares de bandas de frecuencia (*comodulograma*). Un comodulograma puede realizarse con diversas técnicas de filtrado: pasa bandas, Morlet o wavelets. En este trabajo se utilizan filtros pasa banda FIRfilter.





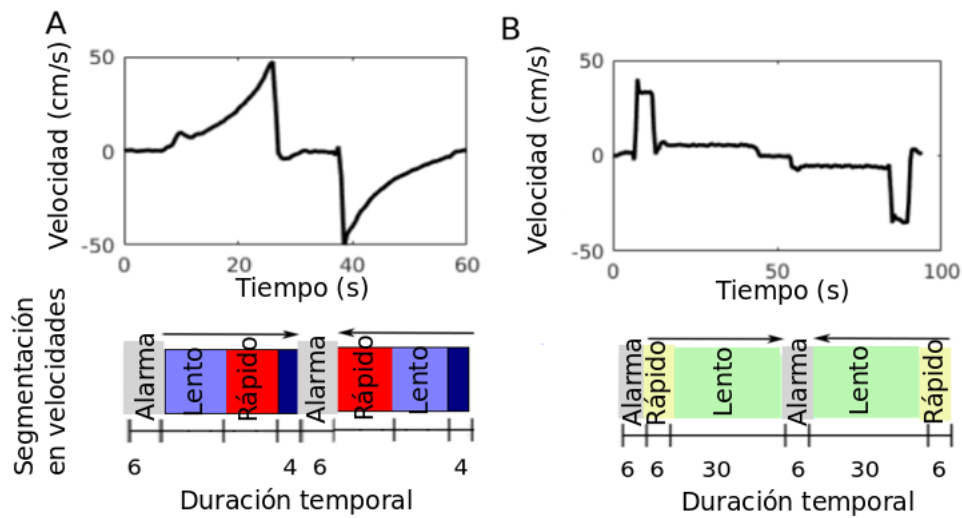
**Figura 4.6: Ejemplos de Comodulogramas** . Acoplamiento fase-amplitud entre diferentes bandas de frecuencia (comodulograma) en diferentes regiones del cerebro. Figura adaptada de *Unveiling Fast Field Oscillations through Comodulation* [100]. (A) La región intensa color rojo entre  $[5 - 10]$ Hz del eje x y  $[120 - 160]$ Hz del eje y muestra un acoplamiento entre las bandas *theta* y *gamma* alto. (B) La región intensa color rojo entre  $[5 - 10]$ Hz del eje x y  $[40 - 60]$ Hz del eje y muestra un acoplamiento entre las bandas *theta* y *gamma* bajo. (C) La región intensa color rojo entre  $[5 - 10]$ Hz del eje x y  $[80 - 100]$ Hz del eje y muestra un acoplamiento entre las bandas *theta* y *gamma* medio.

## COMODO y segmentación de registros

El software COMODO [101] para MATLAB incluye un conjunto de herramientas para computar acoplamiento fase-amplitud utilizando el índice de modularidad citado incluyendo variaciones en los filtros que se utilizan para el análisis de cada señal (pasa bandas, Morlet o Wavelets) y análisis de subrogados. También presenta una rutina optimizada para computar un comodulograma.

Con la herramienta COMODO puede realizarse el análisis de acoplamiento utilizando la secuencia temporal en experimentos completos, y también separando los datos en diferentes condiciones de comportamiento. Existen dos problemas asociados a la utilización de segmentos cortos, el primero se encuentra relacionado con la sobreestimación en la medida de información (divergencia de Kullback-Leibler), y el segundo es que el carácter no local de la transformada de Hilbert (o wavelet) tiene efectos de borde que deben ser evitados en la medida de lo posible [95]. Recortar la señal en segmentos, por ejemplo de 1s, introduce efectos de borde que pueden superar a los efectos que se busca detectar.

La naturaleza del experimento del carrito, en el cual el animal se expone repetidas veces al mismo conjunto de estímulos (velocidad, dirección, aceleración) permite agrupar los fragmentos de la señal registrada en segmentos correspondientes a un mismo estímulo para con ello realizar el análisis de acoplamiento. El procedimiento de concatenación puede realizarse de dos maneras: la primera consiste en realizar la segmentación en la señal cruda (sin filtrar), y luego utilizar el software para el cómputo. Esta metodología introduce saltos no estacionarios en la señal que pueden llevar a tener falsos positivos en el análisis de modulación. La segunda consiste en, primero implementar



**Figura 4.7: Segmentación de los protocolos de velocidad.**(A) Perfil de velocidad del protocolo exponencial con su correspondiente segmentación en tres velocidades (quieto, lento y rápido). (B) Perfil de velocidad del protocolo cuadrado con su correspondiente segmentación en tres velocidades.

los filtros y transformada de Hilbert, y luego concatenar estas señales. Por la implementación del software, con la herramienta COMODO se utiliza la primera estrategia. Debido a los problemas ya mencionados cuando se fragmenta la señal en ese caso se opta por realizar un análisis con fragmentos de longitudes grandes.

En el caso del protocolo de carrito, la concatenación se realiza utilizando todos los fragmentos correspondientes a repeticiones en un mismo día del experimento que corresponden a una misma velocidad o misma aceleración. La Figura 4.7 muestra los ejemplos de los segmentos seleccionados para distintas velocidades según el perfil de evolución temporal de velocidad. A su vez, las flechas en la misma indican los períodos correspondientes a distintas aceleraciones.

Utilizando la herramienta COMODO se grafican los comodulogramas correspondientes al movimiento en los protocolos deterministas a dos velocidades o dos aceleraciones. Para realizar este procedimiento se computan los comodulogramas correspondientes a un día entero de medición, concatenando todos los registros que corresponden a una misma velocidad o aceleración, y luego se promedian los comodulogramas de todos los días de registro. En el caso del protocolo cuadrado las dos velocidades son las impuestas por el protocolo, mientras que en el caso del protocolo exponencial se separan dos regiones: la de baja velocidad correspondiente a los 10s iniciales (finales) de la corrida y velocidad alta correspondiente a los 10s finales (iniciales) de la corrida, en los segmentos de ida y vuelta respectivamente.

Para realizar el análisis con la herramienta COMODO se utilizan, en este caso, filtros pasa banda con 2Hz de ancho de banda en la señal de fase, y 3Hz de ancho de banda en la señal de amplitud, de esta manera queda asegurado el cumplimiento de

las condiciones requeridas en [95], y se presentan los comodulogramas sin realizar una selección de las bandas de frecuencia a estudiar. Utilizando transformada de wavelet con los parámetros apropiados puede realizarse el mismo análisis y se obtienen resultados similares.

### Implementación de MI en el tiempo

Computar el valor del índice de modularidad en el tiempo requiere utilizar segmentos de cierta longitud temporal para disminuir el sesgo positivo de la medida [98, 102]. El protocolo experimental del carrito permite tener repeticiones exactas que corresponden a los mismos estímulos: posición, velocidad y dirección. Esto es una ventaja para poder reorganizar los datos de manera de tener suficiente estadística en cada segmento temporal y poder computar el índice de modularidad en el tiempo. En este caso, el análisis se encuentra restringido a las bandas *delta* y *theta*. Se trabaja con matrices similares a las que se obtienen para hacer el análisis temporal de la amplitud (Sec. 4.2.2), pero se construye una matriz de fases tomando el ángulo de la transformada de Hilbert (al igual que en el Capítulo 3 en el estudio del código de fases) para la señal filtrada en *delta* y una matriz de amplitudes tomando valor absoluto de la transformada de Hilbert para la señal filtrada en *theta*.

Para realizar el análisis en el tiempo primero se filtran los potenciales de campo local en las bandas *delta* y *theta*, y, utilizando la transformada de Hilbert, se computa la fase *delta* y la amplitud de *theta* en el tiempo. A continuación se selecciona cada uno de los segmentos temporales correspondientes a una repetición completa del trayecto lineal (equivalente a la utilizada en la sección de modulación de la amplitud) y se lo divide en segmentos temporales de 1s. Los fragmentos se reagrupan según correspondencia al mismo intervalo temporal en el trayecto lineal y se construye un único histograma de modularidad con estos datos. De esta manera, cada segundo queda representado con un histograma de modularidad y su correspondiente índice de modulación. Al realizar la unión de los segmentos se buscan ciclos completos en la señal de fase, y sólo se incluyen en la nueva señal concatenada estos ciclos y su correspondiente señal de amplitud en la otra banda.

Este procedimiento se realiza con las ratas con protocolo determinista (aprendido) ya que son aquellas que tienen el mismo conjunto de variables cinemáticas asociadas a cada intervalo temporal.

El tiempo es la conjunción de múltiples estados cinemáticos. Al igual que en el Capítulo 3 interesa describir la información temporal hallada en términos de variables de movimiento más específicas, en este capítulo se busca definir cuáles son las variables cinemáticas que influyen en la modulación de acoplamiento. Particularmente en este caso el análisis se centra en las variables aceleración, velocidad y dirección. El proce-

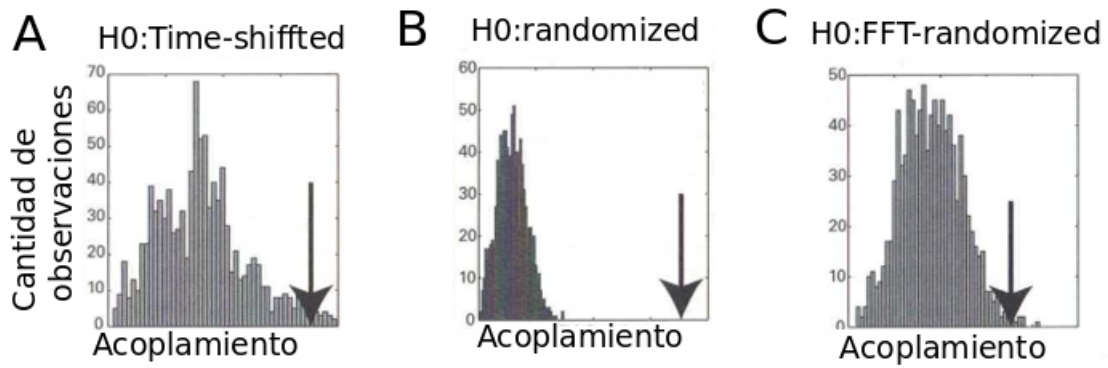
dimiento para realizar un análisis específico de estas variables es similar al presentado en el tiempo pero tomando en la concatenación segmentos temporales más largos que corresponden a una misma dirección, velocidad o aceleración. En este caso como cada rata tiene un protocolo de velocidad diferente, se aplica una segmentación y reorganización distinta dependiendo del perfil de velocidad asociado a cada animal. Para la rata con dos velocidades, la fragmentación del potencial de campo local se realiza tomando todos los trayectos que corresponden al período de expectación (6s), velocidad rápida (6s) y velocidad lenta (36s). Es importante mencionar que, de haber un sesgo en la medida debido a la existencia de una muestra temporal escasa, los valores de acoplamiento asociados al fragmento de velocidad rápida (o expectación) estarán más sobreestimados que el de velocidad lenta (pues el último tiene un intervalo temporal seis veces mayor al anterior). En el caso de las ratas con protocolo exponencial, se toma el segmento de expectación y segmentos de longitud temporal 4s durante el protocolo de velocidad exponencial, obteniéndose un total de 5 segmentos asociados al movimiento, similar a la segmentación para el análisis de amplitudes (Sec. 4.1.1).

Además en ese caso se agregan las ratas con protocolos aleatorios para las cuales se toma cada uno de los fragmentos de 100cm (dentro del trayecto [100 – 300]cm) en los que la rata corre a una velocidad fija, y se concatenan estos agrupandolos en los cuatro valores de velocidad del protocolo, o en dos direcciones (derecha o izquierda).

#### 4.1.4. Análisis de subrogados

En procesos no estacionarios las componentes espectrales de una señal pueden presentar correlaciones que se deben únicamente a la no estacionariedad [103]. Además, estímulos no estacionarios pueden inducir correlaciones espectrales que no son propias de los procesos fisiológicos. Para eliminar estos falsos positivos es necesario realizar un análisis de subrogados.

Un análisis apropiado de subrogados debe destruir únicamente aquellas características estacionarias de los ciclos asociadas a la hipótesis de la existencia de un acoplamiento fase-amplitud y dejar el resto de las características, como no estacionariedad y no linealidades, intactas [95]. Existen varias maneras de realizar un subrogado, por ejemplo tomando la señal de fase y mezclando todos los valores (*Randomized*). De esta manera se obtiene una señal estacionaria que destruye toda estructura en frecuencia y también toda no estacionariedad de la señal [95, 104], volviéndose este análisis demasiado permisivo en términos de significancia. Otra estrategia consiste en realizar la mezcla tomando bloques de una de las señales (fase o amplitud). Sin embargo esta técnica también destruye significativamente las características no estacionarias de la señal, y también el espectro de frecuencias (*FFT-randomized*). Finalmente, la técnica que más se utiliza (y se utiliza en este trabajo tanto con el software COMODO como

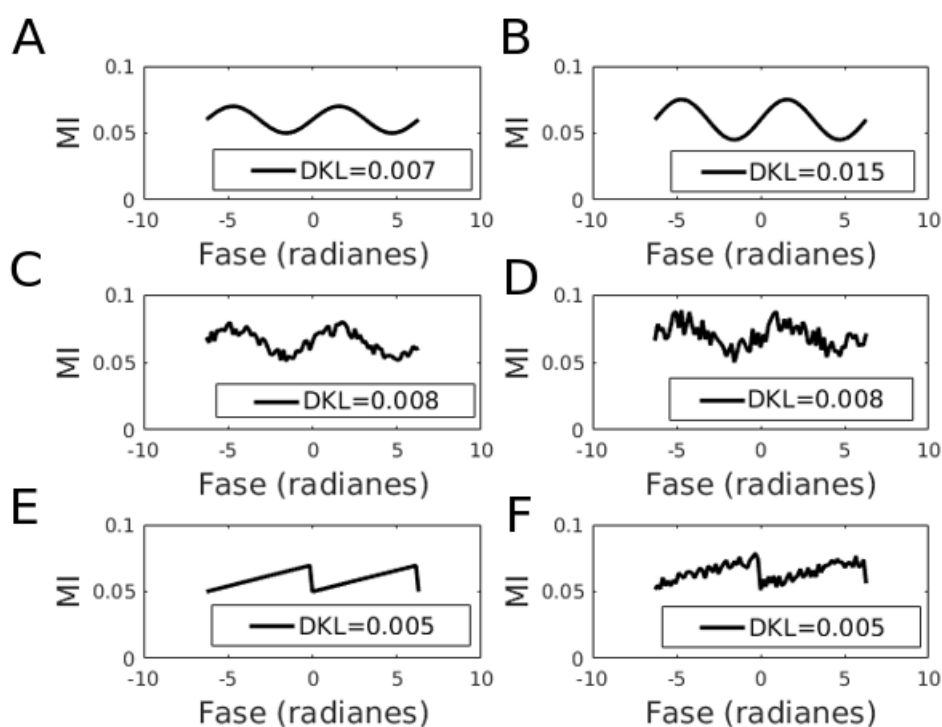


**Figura 4.8: Métodos de subrogados.** Figura adaptada de *Analyzing neural time series data* [104] para mostrar la diferencia entre diferentes tipos de subrogados. La flecha vertical indica el valor original que se obtiene con los datos sin realizar ninguna alteración. (A) Metodología *Time-Shifted* que consiste en intercambiar en múltiples repeticiones dos segmentos aleatorios de la señal. (B) Metodología *randomized* que consiste en intercambiar aleatoriamente todos los puntos de la señal. (C) Metodología *FFT-randomized* que consiste en intercambiar bloques que preservan la estructura de densidad espectral.

con la implementación en el tiempo) es la de realizar un corte en un único punto aleatorio de la señal de fase (o de amplitud), intercambiar el orden de los dos segmentos generados, medir el acoplamiento entre la nueva señal reordenada y la señal de amplitud (o fase) original, y repetir el procedimiento múltiples veces. De esta manera se asegura una distorsión mínima en las propiedades originales de la señal, y se obtiene un subrogado más conservador (*Time-shifted*). La Figura 4.8 muestra histogramas de valores obtenidos a partir de los distintos métodos de análisis de subrogados, y con una flecha se muestra el valor original de los datos. Los histogramas que se obtienen con las tres técnicas presentan medias y varianzas diferentes, siendo el correspondiente a la técnica *Time-shifted* el que presenta valores mayores, por lo cual es el más estricto en términos de significancia estadística.

En este trabajo para cada segmento temporal se utilizan 1000 repeticiones del análisis de subrogado mediante la técnica de *Time-shifted* y se considera significativo el valor del acoplamiento si el índice encontrado es mayor al 99.9% de los valores subrogados.

A la hora de reportar el valor del índice de modularidad del acoplamiento medido es importante tener presente que irregularidades en el histograma de modularidad pueden introducir valores altos de modulación. Por ejemplo, el ruido puede introducir resultados espurios (Figura 4.9C y 4.9D) o un valor de índice de modularidad alto puede resultar de histogramas de modularidad que no reflejan un acoplamiento entre bandas, como los ejemplos triangulares (acoplamientos con forma de diente de sierra) en la Figura 4.9E y 4.9F.



**Figura 4.9: Múltiples histogramas de modularidad: ejemplos cualitativos.** Ejemplos de histogramas de modularidad que producen valor de índice de modulación en el mismo orden de magnitud que los que se reportan en la literatura. Los valores de la Divergencia de Kullback-Leibler (DKL) entre los histogramas de ejemplo y la distribución plana se muestran en recuadros. (A) Ejemplo de modulación sinusoidal leve. (B) Ejemplo de modulación sinusoidal más intensa. (C) Ondulación como en A pero con ruido montado. (D) Histograma resultado de ruido gaussiano en torno a la distribución plana más una leve ondulación. (E) Histograma con forma de diente de sierra. (F) Histograma con forma de diente de sierra con ruido gaussiano.

### 4.1.5. Significancia estadística

El principal objetivo en este caso consiste en decidir si las variables amplitud del ritmo *delta* y acoplamiento fase-amplitud entre *delta* y *theta* son significativamente diferentes en distintas condiciones comportamentales y para distintos momentos del aprendizaje del protocolo. En el caso de acoplamiento fase-amplitud, primero debe realizarse el análisis de subrogados para verificar que los resultados obtenidos son propios de un proceso fisiológico y no de otras particularidades de la señal y luego se estudia si la modulación es diferente para distintas variables comportamentales.

Se verificará si cambios en la velocidad producen cambios en la amplitud normalizada (o simplemente amplitud), y si cambios en la velocidad, la dirección o la aceleración producen cambios en el acoplamiento. El análisis de significancia se realiza comparando los valores de las señales electrofisiológicas (amplitud o acoplamiento) correspondientes a la comparación entre dos condiciones cinemáticas.

Para el caso de amplitud, en los protocolos deterministas se promedian todas las amplitudes correspondientes a segmentos temporales de una misma velocidad para cada repetición (utilizando la segmentación propuesta en Sec. 4.1.1) y se computa el histograma de las medias para todas las repeticiones. Luego se realiza un test estadístico (t-test) que compara todos los estadios de comportamiento segmentados. Para las ratas aleatorias se realiza el mismo procedimiento promediando las amplitudes en cada banda de frecuencia por realización, y generando cuatro histogramas correspondientes a las cuatro velocidades analizadas. Finalmente, para el protocolo de navegación libre se computa un valor medio por cada segmento en el que la rata de desplaza a velocidades  $[0, 2)\text{cm/s}$ ,  $[2, 5)\text{cm/s}$ ,  $[5, 15)\text{cm/s}$ ,  $[15, 25)\text{cm/s}$ ,  $[25, 50)\text{cm/s}$ . El histograma de cada uno de estos intervalos se calcula agrupando los valores medios obtenidos en distintos segmentos correspondientes a una misma velocidad.

En el caso de acoplamiento fase-amplitud un paso intermedio es necesario, ya que se requiere amplia cantidad de datos para computar un índice de modularidad con poco sesgo. En este caso, se toma cada segmento el trayecto lineal de la misma manera que se describió anteriormente y se computa un índice de modularidad por recorrido, por segmento de velocidad o por segmento de aceleración (en el caso de los protocolos deterministas) y uno por segmento de dirección (en el caso de los protocolos aleatorios). En algunos casos, con el objetivo de mejorar la estimación de los histogramas de amplitud media versus fase, en lugar de computar un único índice de modulación por repetición es necesario agrupar repeticiones del experimento con la misma velocidad o aceleración en grupos de 5 o 10 repeticiones.

De esta manera, por ejemplo, para el análisis en velocidad de la rata con protocolo cuadrado, luego de un trayecto (o un par de trayectos) en el carrito (una ida y vuelta), se tienen tres índices de modularidad: uno para el período expectante, uno para velocidad

rápida y uno para velocidad lenta. El test estadístico en este caso se construye juntando todos los índices de modulación que corresponden al mismo estado de comportamiento (velocidad, dirección o aceleración). Es importante destacar que en este caso se utilizan segmentos temporales de diferente longitud (ejemplo, 6s para velocidad rápida y 36s para velocidad lenta), y esta diferencia puede introducir resultados espurios ya que los segmentos cortos tienden a estar positivamente sesgados.

#### 4.1.6. Aprendizaje en amplitud y acoplamiento

Para decidir si la dependencia de la amplitud en diferentes ritmos con la velocidad, y la modulación entre los ritmos *delta* y *theta* con la velocidad, aceleración o dirección es dependiente de un proceso de aprendizaje se separan las primeras  $n$  repeticiones del experimento de las últimas  $n$  repeticiones, y se analizan estos casos por separado. Para verificar la relevancia entre las diferencias en los primeros y últimos días es necesario realizar un test estadístico.

En este caso se realizan dos test estadísticos de medias (t-test). El primero consiste en comparar, para cada condición de comportamiento, los histogramas que se obtienen al principio y el final, evidenciándose así si las diferencias que se observan son propias del aprendizaje de algún estímulo específico. La segunda manera consiste en comparar si las diferencias estadísticas que se observan entre distintas condiciones cinemáticas los primeros días se mantienen, intensifican o desaparecen los últimos días de registro. En el segundo caso, puede ser que siempre existan diferencias estadísticas significativas, pero que los p-valores obtenidos del t-test se modifiquen intensificando o diluyendo la significancia.

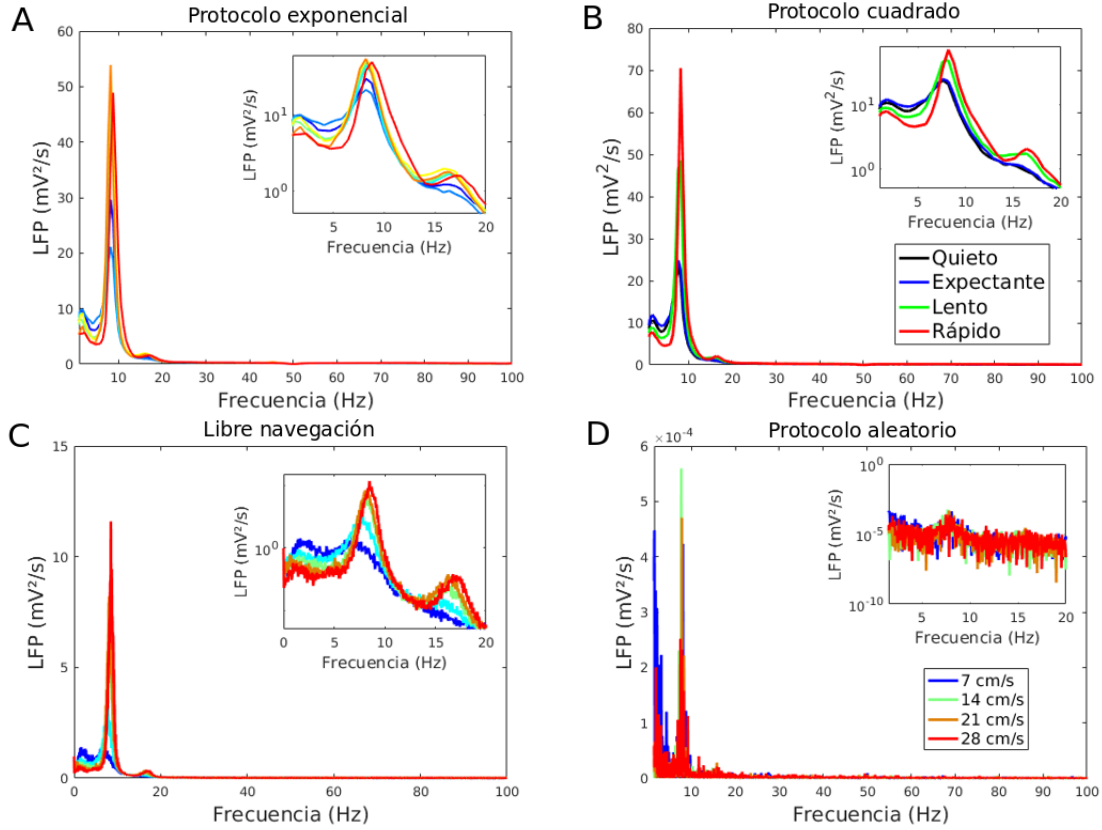
## 4.2. Resultados

### 4.2.1. Caracterización del ritmo delta: FFT

Independientemente del protocolo en cuestión (carrito con distintos perfiles de velocidad o navegación libre), en la corteza entorrinal, el espectro de frecuencia muestra una proporción significativa de potencia en la banda *delta*, como se muestra en el Capítulo 3. Al igual que las características del ritmo *theta* se modifican con los comportamientos de la rata, la potencia en la banda *delta* se encuentra modificada por las distintas variables cinemáticas de la navegación. En la Figura 4.10 se muestra la modificación en el espectro, particularmente en las bandas *theta* y *delta*, cuando el animal pasa de estar quieto a estar moviéndose, y para diferentes velocidades en cuatro protocolos de comportamiento diferentes.

Trabajos previos han reportado que la potencia en el pico de la banda *theta* y tam-





**Figura 4.10: Espectros medios de potencias para diferentes velocidades.** Espectros medios en el dominio de las frecuencias separando los diferentes comportamientos de cuatro ratas en protocolos distintos para registros de corteza entorrinal. Cada espectro se computa a partir de tomar la media de múltiples espectros en las mismas condiciones experimentales. En las señales el ruido de línea de 50Hz se elimina utilizando un filtro *notch*. **(A)** Rata 14566 en navegación en carrito con protocolo exponencial, separando las condiciones: previo a la alarma, alarma y velocidades  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $V_3$ ,  $V_4$ ,  $V_5$ . El código de colores lleva desde los fríos (azul) hacia los más cálidos (rojo), indicando la progresión en el protocolo de movimiento hacia velocidades más altas. El movimiento inicia a 0cm/s y termina a 50cm/s. Cada una de las velocidades  $V_i$  corresponde a un segmento de 4s dentro del perfil exponencial. **(B)** Rata 14570 en navegación con protocolo cuadrado, separando las condiciones: libre, alarma, velocidad baja (6cm/s) y velocidad alta (36cm/s); **(C)** espectrogramas para diferentes velocidades en el protocolo de navegación libre para la rata 14570 separando en las velocidades:  $[0, 2)cm/s$ ,  $[2, 5)cm/s$ ,  $[5, 15)cm/s$ ,  $[15, 25)cm/s$ ,  $[25, 50)cm/s$ , en este caso el código de colores también va desde los más fríos correspondientes a velocidades bajas a los más cálidos correspondientes a velocidades altas. **(D)** Espectrogramas de la rata 16232 computados con los segmentos de diferente velocidad: 7cm/s, 14cm/s, 21cm/s, 28cm/s.

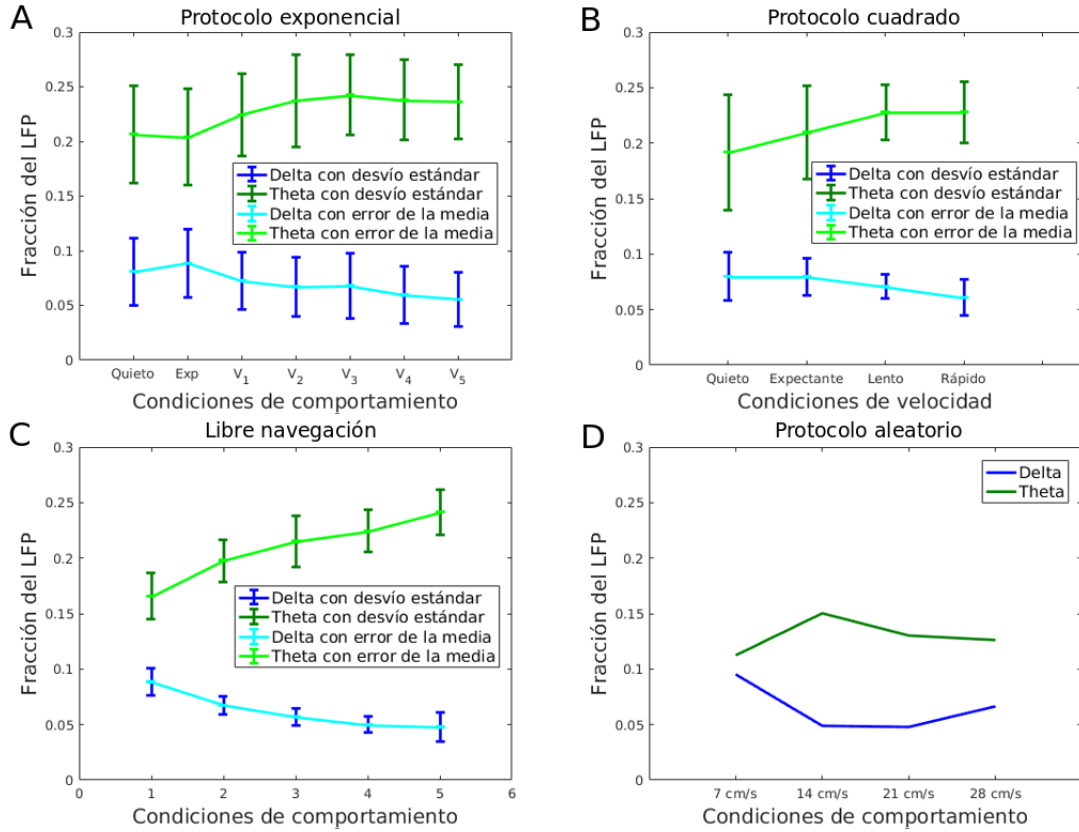
bién su posición se modifican cuando la rata cambia su velocidad. En las Figura 4.10A, 4.10B (protocolos exponencial y cuadrado, respectivamente), y 4.10C se observa el aumento progresivo en la amplitud del pico en la banda *theta*. Además en los tres casos se observa una modificación en la cantidad de potencia en la banda de aproximadamente  $[15 - 20]$ Hz. Este aumento en la potencia del primer armónico coincide con resultados previos que reportan, no sólo cambios en la periodicidad de la onda con la velocidad, sino también en la forma. Al aumentar la potencia en el primer armónico de *theta*, la señal se vuelve más triangular (recordar [91]).

En el caso de la banda *delta* para registros de CE durante navegación espacial no existe un claro pico en la banda *delta*, por lo que no pueden medirse directamente cambios en su posición o en su amplitud (salvo computando la frecuencia instantánea a partir de la fase instantánea). Se propone entonces medir la potencia total en la banda a partir de la integral del espectro, y compararla en los distintos estadios del comportamiento. La Figura 4.11 muestra la evolución de la fracción de los espectros de la Figura 4.10 correspondientes a las bandas *delta* y *theta* para diferentes protocolos y velocidades.

La Figura 4.11 presenta una reafirmación del resultado ya conocido de que la potencia de la banda *theta* aumenta con la velocidad. Particularmente en la Figura 4.11A y 4.11B, que corresponden a las ratas con protocolo exponencial y cuadrado, se evidencia que la potencia total en *theta* aumenta significativamente al pasar del estado de quietud al estado de movimiento. La Figura 4.11C muestra un aumento progresivo de potencia en banda *theta* al aumentar la velocidad en navegación libre. Sin embargo, en el protocolo aleatorio la potencia en la banda *theta* no muestra una dependencia evidente con la velocidad.

Además se observa que la integral en la banda *delta* se modifica significativamente con el comportamiento. La Figura 4.11A muestra un decremento en la fracción al pasar de inactivo a activo y una disminución continua del valor integral al aumentar la velocidad. El mismo resultado se observa en la Figura 4.11B para las dos velocidades de movimiento analizadas del protocolo de velocidad cuadrado. El protocolo de libre navegación reafirma el resultado que distingue estados de quietud de movimiento con la actividad en la banda *delta*, mientras que el protocolo de exploración aleatoria no muestra diferencias significativas en la potencia total en *delta* para las distintas velocidades.

En este punto se resalta principalmente la conclusión de que la potencia total en *delta* depende del estado comportamental del animal, diferenciando los estados de quietud y alarma de los estados de movimiento. En los protocolos aprendidos, el perfil de velocidad modula la cantidad de potencia total en *delta*, resultado que no es evidente en navegación libre o en el protocolo aleatorio. Cabe destacarse que todos los resultados a alta velocidad del protocolo aleatorio deben tomarse con cuidado debido a que la



**Figura 4.11: Potencia total de cada banda en CE.** Fracción media de la potencia total del espectro correspondiente a las bandas *delta* (azul) y *theta* (verde) para cuatro ratas en diferentes condiciones de movimiento computada a partir de la fracción en cada una de las repeticiones del experimento. Las barras de error muestran el desvío estándar de la fracción media y el error de la media con diferentes colores. (A) Rata 14566 en el protocolo exponencial separando las condiciones: previo a la alarma, alarma y velocidades  $V_1, V_2, V_3, V_4, V_5$ . El movimiento inicia a 0cm/s y termina a 50cm/s. Cada una de las velocidades  $V_i$  corresponde a un segmento de 4s dentro del perfil exponencial. (B) Rata 14570 en el protocolo cuadrado separando las condiciones: libre(0cm/s), alarma (0cm/s), velocidad baja (6cm/s) y velocidad alta (36cm/s). (C) Rata 14570 en el protocolo de navegación libre separando en las velocidades:  $[0, 2)cm/s$ ,  $[2, 5)cm/s$ ,  $[5, 15)cm/s$ ,  $[15, 25)cm/s$ ,  $[25, 50)cm/s$ . (D) Rata 16232 en el protocolo de velocidad aleatoria con los segmentos de diferente velocidad: 7cm/s, 14cm/s, 21cm/s, 28cm/s.

rata navega a 28cm/s durante un período menor a 4s. Computar una transformada de Fourier en estos segmentos cortos introducen efectos de borde que se traducen en potencia de baja frecuencia espuria. Para desglosar estas dependencias se propone hacer un análisis en el tiempo y en la velocidad utilizando un enfoque temporal, mediante la utilización filtros en bandas y transformada de Hilbert.

#### 4.2.2. Modulación de la amplitud en banda delta

En esta sección se analiza la evolución de la envolvente del potencial de campo local filtrado en bandas *delta* y *theta* cuando la rata repite el mismo perfil de velocidades en múltiples ocasiones. Debido a que los únicos protocolos que garantizan idénticas condiciones son los del carrito determinista, se realiza este análisis únicamente con los protocolos exponencial y cuadrado.

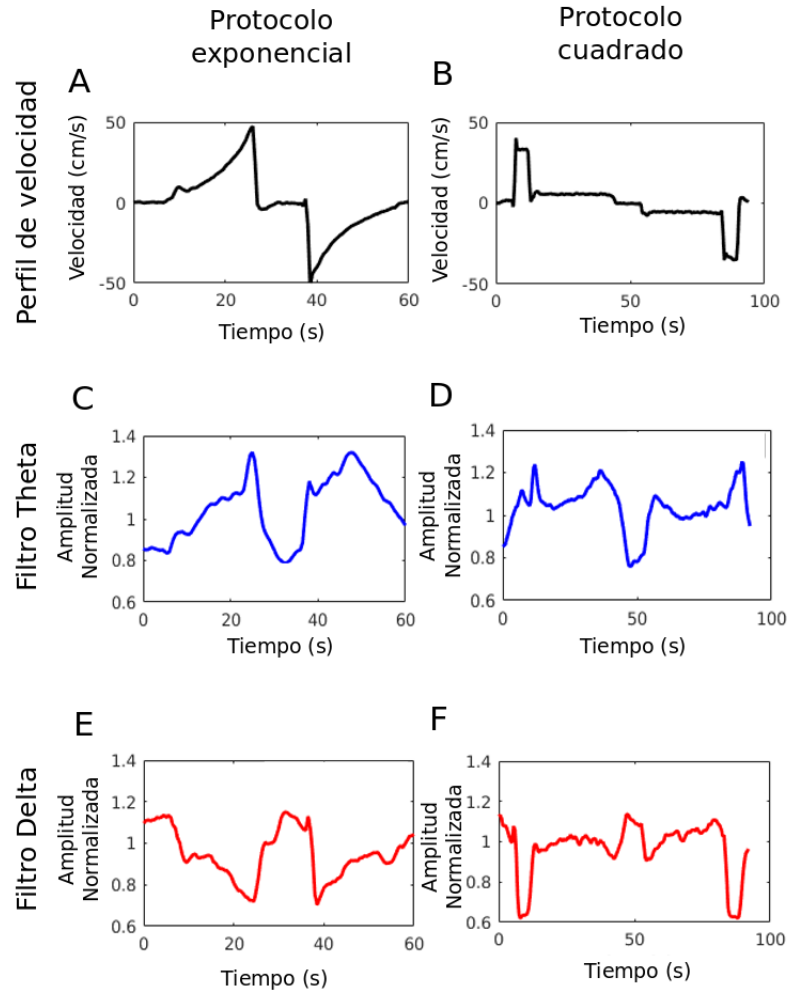
##### Modulación de la amplitud en el tiempo

Se propone verificar que la amplitud en la banda *delta*, al igual que en la banda *theta*, se encuentra modulada por el estado cinemático. En la Figura 4.12 se presenta el promedio en realizaciones del módulo de la transformada de Hilbert (Sec.4.1.2) correspondientes a las señales filtradas en las bandas *theta* y *delta*, al igual que el perfil de movimiento correspondiente. En el caso de la Figura 4.12C y 4.12D, se muestra que la amplitud de la señal en *theta* se encuentra positivamente correlacionada con la velocidad de movimiento. Además las Figuras 4.12E y 4.12F muestran que la amplitud en *delta* se encuentra anti correlacionada con la velocidad. Se reportan en este caso los valores medios, siendo los errores de la media muy pequeños debido a la cantidad de datos promediada.

Los perfiles de movimiento en el experimento de carrito controlan explícitamente la velocidad, por lo que la Figura 4.12 reafirma el resultado respecto a la modulación de la amplitud en la banda *theta* con la velocidad. Además muestra que existe dependencia en las oscilaciones de baja frecuencia con la velocidad de corrida del animal. La propuesta entonces será que, al menos en los protocolos aprendidos, la amplitud en la banda *delta* depende inversamente de la velocidad a la que corre el animal.

##### Modulación de la amplitud con la velocidad

La propuesta es que la amplitud en la banda *delta* en los protocolos deterministas se modula directamente por la velocidad de corrida del animal. Para verificar esta aseveración se realiza un test estadístico agrupando todas las amplitudes correspondientes a una misma velocidad. La agrupación de los datos se realiza de la misma manera que en la Sec. 4.2.1, con la diferencia de que en este caso se promedian todas las amplitu-



**Figura 4.12: Dependencia de diferentes bandas de frecuencia del potencial de campo local con el perfil de velocidades.** (A) Perfil de velocidad exponencial de la rata 14566. (B) Perfil de velocidad cuadrado de la rata 14570. (C) valor medio de la transformada de Hilbert de la señal filtrada en  $[6 - 12]$ Hz para la rata 14566. (D) Valor medio de la transformada de Hilbert de la señal filtrada en  $[6 - 12]$ Hz para la rata 14570. (E) valor medio de la transformada de Hilbert de la señal filtrada en  $[1,5 - 4]$ Hz para la rata 14566. (F) Valor medio de la transformada de Hilbert de la señal filtrada en  $[1,5 - 4]$ Hz para la rata 14570.

des correspondientes a cada segmento y luego se realiza un histograma con todas las medias que corresponden a la misma condición.

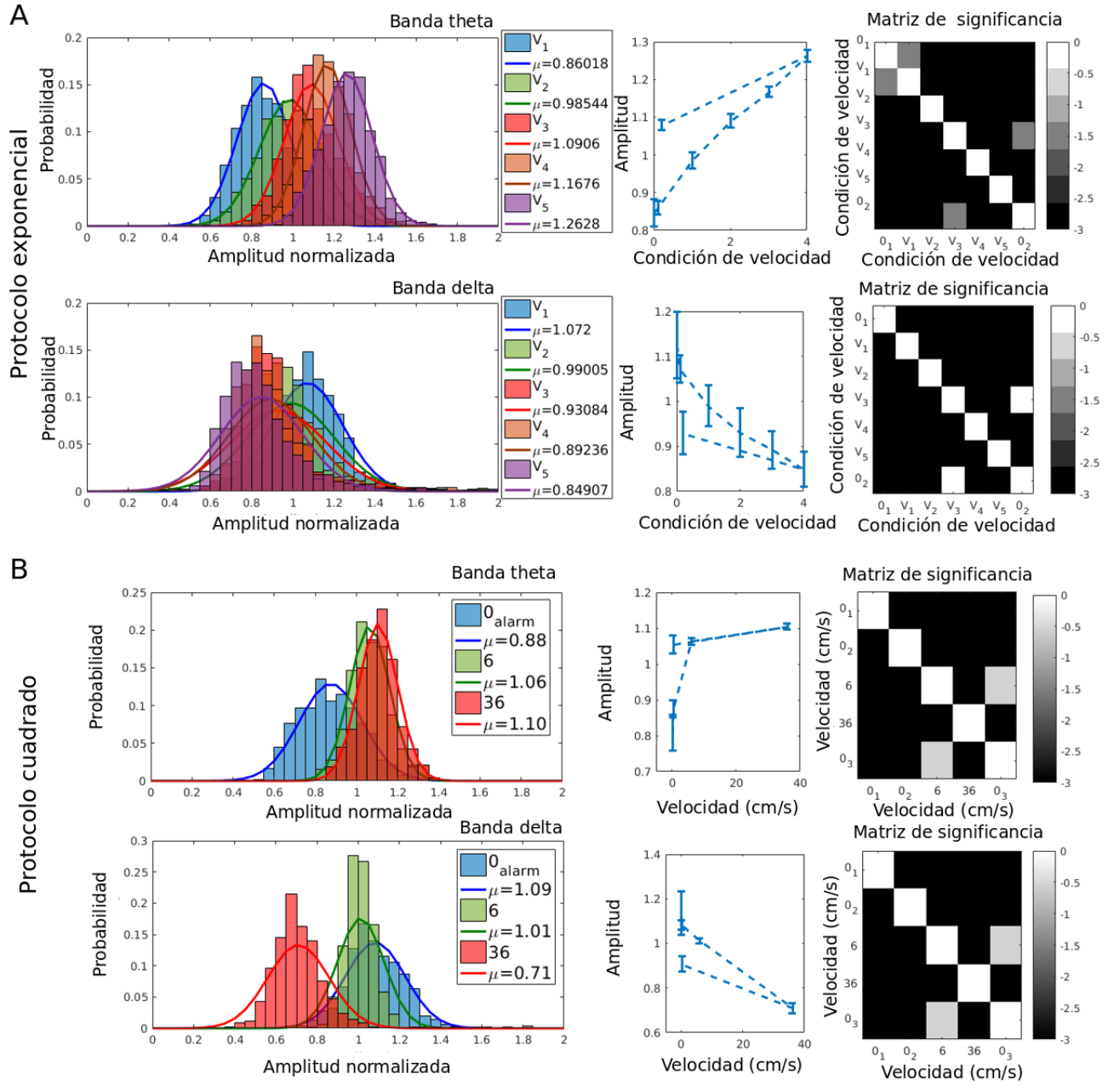
Observando (Fig 4.13 y 4.14) que las distribuciones obtenidas mediante el procedimiento son gaussianas, un t-test puede ser utilizado para buscar significancia en las diferencias entre las medias de los distintos segmentos.

Para separar los efectos de aprendizaje del protocolo determinista de los que son exclusivos de velocidad, se realiza el mismo análisis estadístico agrupando las velocidades de los protocolos de corrida libre y aleatorio como en la Sec. 4.2.1.

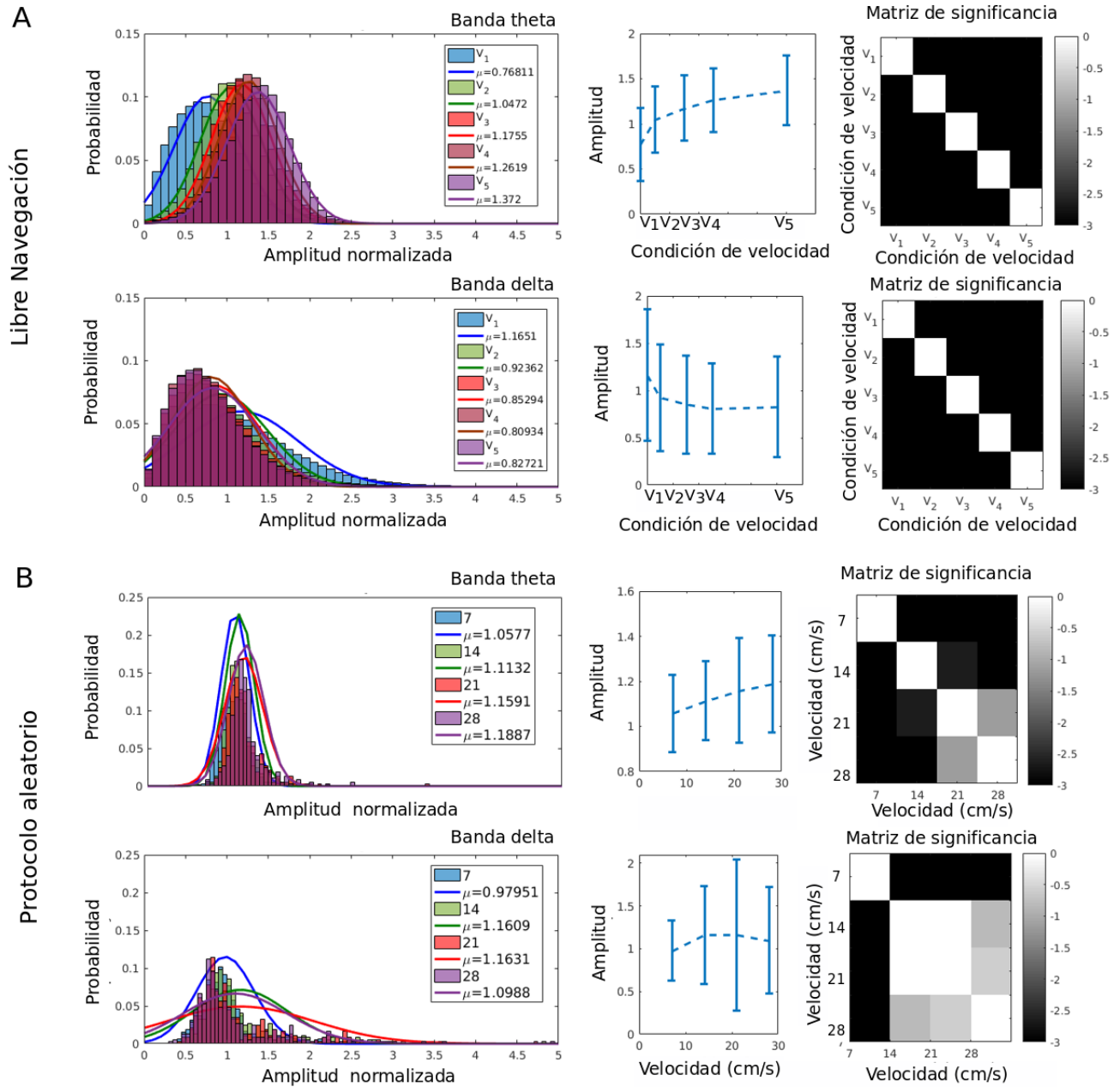
La amplitud en la banda *theta* se encuentra significativamente correlacionada con la velocidad a la que corre la rata independientemente del protocolo. Las Figuras 4.13 y 4.14 presentan en los paneles superiores (paneles inferiores) de cada subfigura las distribuciones de valores de amplitud normalizada en la banda *theta* (banda delta) para los diferentes comportamientos, el panel intermedio muestra la correlación positiva entre la velocidad y el valor medio de las distribuciones de amplitud en *theta*, y el panel de la derecha muestra en escala logarítmica una matriz con la significancia estadística con la que pueden distinguirse las distribuciones correspondientes a distintas velocidades. Para todos los protocolos, el panel intermedio muestra que la correlación entre la amplitud media en *theta* y la velocidad es positiva. Además la matriz de significancia estadística de los paneles correspondientes muestra que para todos los protocolos la diferencia entre las medias para distintas velocidades es suficiente para distinguir las distribuciones con una probabilidad mayor al 99.9 %.

La propuesta de este trabajo es demostrar que las amplitudes en *delta* también reflejan propiedades correlacionadas con la velocidad. Para los protocolos deterministas (Figura 4.13A y 4.13B, panel inferior) la amplitud media en la banda *delta* está anticorrelacionada con velocidad de corrida del animal. Un test estadístico sobre las medias revela que existe diferencia significativa a distintas velocidades. En el caso de la rata con protocolo cuadrado las varianzas de las distribuciones son comparables a las varianzas de sus análogos en banda *theta* y se obtienen niveles de significancia similares. En el caso de protocolo exponencial, las varianzas de las distribuciones de amplitud en *delta* son mayores y se obtienen valores de significancia un orden de magnitud menores a sus análogos en *theta*. Si bien la Figura 4.13 muestra los valores de significancia saturados existen diferencias entre las significancias en *theta* y *delta*. En todo caso, en ambos protocolos se evidencia la existencia de diferencias significativas en las medias para diferentes velocidades.

Este resultado se reafirma en el protocolo de navegación libre. El panel intermedio de la figura Figura 4.14A muestra que la media de las distribuciones de amplitud normalizada en *delta* disminuye para distintas velocidades de movimiento, y además las diferencias observadas son significativas (panel de la derecha), aunque los p-valores son órdenes de magnitud mayores.



**Figura 4.13: Significancia estadística de amplitudes.** Análisis de significancia estadística para distinguir las medias de las distribuciones de amplitudes para diferentes velocidades en las bandas *delta* y *theta*. Cada subfigura se encuentra dividida en paneles que representan estos análisis con un panel superior correspondiente al análisis en la banda *theta* y uno inferior correspondiente a la banda *delta*. Cada panel se compone de una figura con los histogramas normalizados para amplitudes normalizadas (sin unidades) en la banda correspondiente y se incluye el ajuste gaussiano correspondiente (donde la media y varianza se extraen de los datos); un panel intermedio que muestra la media y el desvío estándar de cada una de estas distribuciones como función de la velocidad; y un tercer panel que representa una matriz en escala de grises donde se muestra en escala logarítmica el p-valor correspondiente a un t-test para distinguir las distribuciones de amplitudes de diferentes velocidades tomadas de a pares. En los t-test se incluyen los estados previo a la alarma y posterior a la corrida del animal. La representación gráfica se satura al p-valor  $10^{-3}$ . **(A)** Protocolo exponencial de la rata 14566 para velocidades  $V_1, V_2, V_3, V_4, V_5$ . El movimiento inicia a 0cm/s y termina a 50cm/s. Cada una de las velocidades  $V_i$  corresponde a un segmento de 4s dentro del perfil exponencial. En el t-test  $0_1$  corresponde al período de alarma y  $0_2$  al posterior a la corrida. **(B)** Protocolo cuadrado de la rata 14570 para condiciones alarma (0cm/s), velocidad baja (6cm/s) y velocidad alta (36cm/s). En el t-test  $0_1$  corresponde al período previo a la alarma,  $0_2$  al período de alarma y  $0_3$  al segmento posterior al protocolo.



**Figura 4.14: Significancia estadística de amplitudes.** Análisis de significancia estadística para distinguir las medias de las distribuciones de amplitudes para diferentes velocidades en las bandas *delta* y *theta*. Cada subfigura se encuentra dividida en paneles que representan estos análisis con un panel superior correspondiente al análisis en la banda *theta* y uno inferior correspondiente a la banda *delta*. Cada panel se compone de una figura con los histogramas normalizados para amplitudes en la banda correspondiente y se incluye el ajuste gaussiano correspondiente (donde la media y varianza se extraen de los datos); un panel intermedio que muestra la media de cada una de estas distribuciones como función de la velocidad; y un tercer panel que representa una matriz en escala de grises donde se muestra en escala logarítmica el p-valor correspondiente a un t-test para distinguir las distribuciones de amplitudes de diferentes velocidades tomadas de a pares. La representación gráfica se satura al p-valor  $10^{-3}$ . **(A)** Protocolo de navegación libre de la rata 14570 separando en las velocidades:  $V_1 = [0, 2) \text{ cm/s}$ ,  $V_2 = [2, 5) \text{ cm/s}$ ,  $V_3 = [5, 15) \text{ cm/s}$ ,  $V_4 = [15, 25) \text{ cm/s}$ ,  $V_5 = [25, 50) \text{ cm/s}$ . **(B)** Protocolo aleatorio para la rata 16232 con los segmentos de diferente velocidad:  $7 \text{ cm/s}$ ,  $14 \text{ cm/s}$ ,  $21 \text{ cm/s}$ ,  $28 \text{ cm/s}$ .



Sin embargo, estos resultados no se reafirman en los protocolos de velocidad aleatoria. En el panel inferior de la Figura 4.14B se observa en la matriz de significancia que sólo es posible distinguir, en base a los histogramas de amplitud en *delta*, la velocidad más baja (7cm/s) de todas las demás, obteniéndose entre las demás velocidades valores de significancia estadística mayores a  $10^{-1}$ .

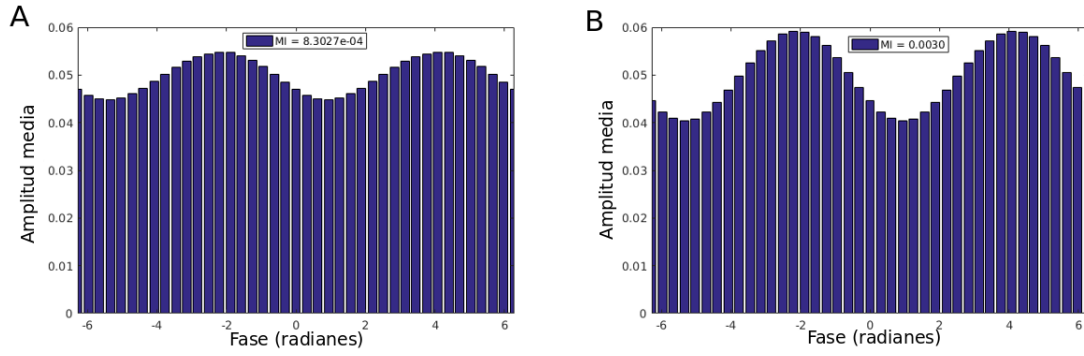
La combinación de estos resultados sugieren que la dependencia de *delta* con la velocidad podría estar sujeta a un proceso fisiológico relacionado con el hecho de que la rata conoce o puede anticipar la velocidad a la que va a moverse inmediatamente, ya sea porque lo decide mediante algún proceso interno o porque ha aprendido el protocolo de movimiento. La segunda cuestión será abordada en la Sec. 4.2.4.

### 4.2.3. Acoplamiento fase-amplitud entre *delta* y *theta*

En las secciones 4.2.1 y 4.2.2 se muestra que, tanto en los protocolos aprendidos como en el de libre navegación, la fracción de la potencia en la banda *delta* decrece al aumentar la velocidad mientras que la potencia en *theta* aumenta. Esto podría sugerir la existencia de algún mecanismo de comunicación entre estas dos señales que ocurren a diferentes escalas temporales. En esta sección se explora la idea de que estas oscilaciones se encuentran correlacionadas vía el mecanismo de acoplamiento fase-amplitud.

Para explorar esta correlación se asume que los mecanismos que generan las señales *delta* y *theta* son independientes. Sin embargo, debido a la cercanía de los rangos de frecuencia analizados podría llegar a suponerse que la banda *delta* representa un subarmónico de la banda *theta*. Los resultados presentados en las secciones 4.2.1 y 4.2.2 que muestran que ambas bandas tienen comportamientos opuestos referidos al mismo perfil de velocidad sugieren que los mecanismos que generan la amplitud de cada una lo hacen de manera independiente, aunque se desconoce si, en el caso de *delta*, este ritmo es generado por sistemas propios de la corteza entorrinal o si provienen de otra región. El análisis propuesto en el Capítulo 3 respecto a células que sincronizan al ritmo *delta* o que codifican información en el mismo sugiere que algunas neuronas de la CE podrían estar al menos involucradas en el sostenimiento del ritmo.

El índice de modularidad propuesto como medida para detectar acoplamiento fase-amplitud se basa en medir la diferencia, en términos probabilísticos, entre el histograma de amplitudes medias en la banda de alta frecuencia correspondientes a cada una de las fases en la banda de baja frecuencia. La ondulación casi sinusoidal presentada en la Figura 4.15A y Figura 4.15B, donde se muestran ejemplos de histogramas de amplitud media de banda *theta* para cada fase de banda *delta*, sugieren que existe una modulación entre las señales filtradas en estas bandas de frecuencia y un histograma plano. El resultado se evidencia para dos protocolos de navegación diferentes en ratas distintas, lo cual permite proponer afirmar que el acoplamiento entre bandas *delta* y *theta* es un

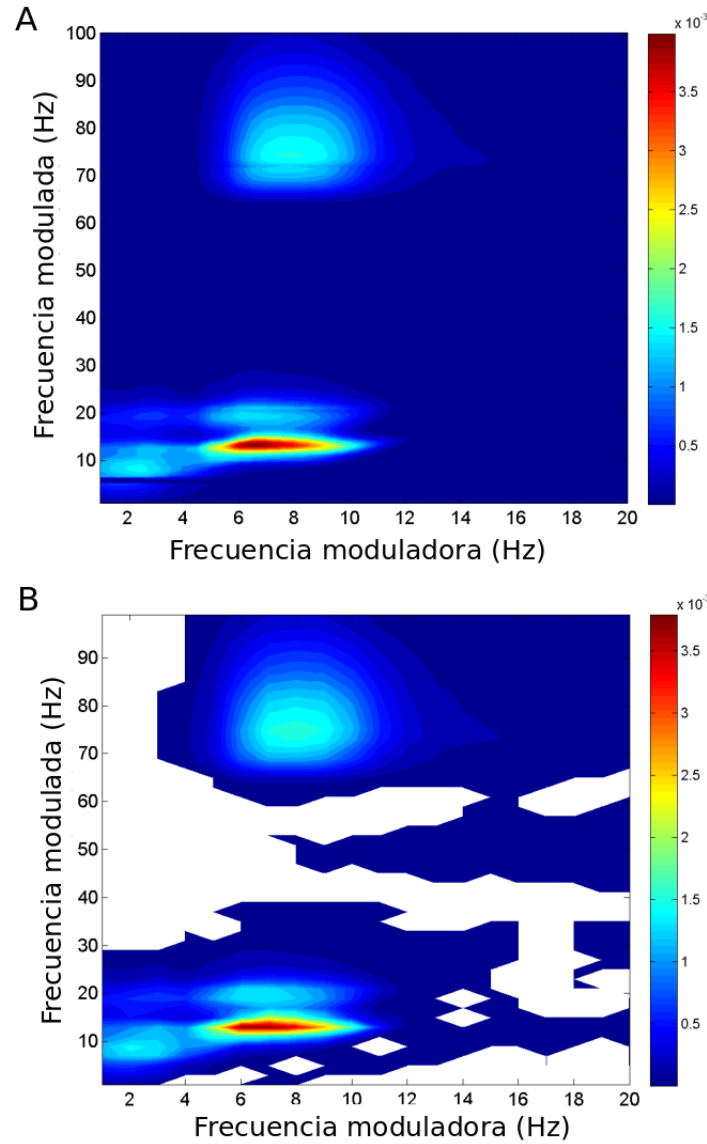


**Figura 4.15: Ejemplos de histogramas de modulación fase-amplitud.** Ejemplo de histogramas de modulación donde se presenta la amplitud media de la banda *theta* para las diferentes fases de la banda *delta* en dos protocolos diferentes. El análisis corresponde a un registro completo a lo largo de un día sin realizar ninguna segmentación de la tarea que el animal se encuentra realizando. En la leyenda de cada gráfico se indica el valor del índice de modulación. (A) Rata 14566 en protocolo exponencial. Índice de modulación:  $8 \times 10^{-4}$  (B) Rata 14570 en protocolo cuadrado. Índice de modulación:  $3 \times 10^{-3}$ .

mecanismo general que no se cancela al mezclar todos los estados de movimiento por los que pasa la rata al realizar la tarea exploratoria (particularmente las velocidades). Es importante aclarar que en los casos de detectar acoplamiento espurio, los histogramas de amplitud presentan irregularidades diferentes a los ejemplos presentados en la Figura 4.15. Estas irregularidades se manifiestan como arrugas, o señales ruidosas y escalonadas (ver Sec. 4.1.4) que son sinusoidales como las que se muestran.

De la Figura 4.15A y Figura 4.15B se obtienen valores de índice de modularidad MI iguales a  $8 \times 10^{-4}$  y  $3 \times 10^{-3}$ , respectivamente. Estos valores se encuentran en el mismo orden de magnitud que los reportados para las bandas *theta*-*gamma* por Colgin [92] y Tort [98]. La Figura 4.16A muestra el comodulograma (realizado con la herramienta COMODO) donde se analiza el acoplamiento tomando pares de bandas de frecuencia en el rango  $[1 - 20]$ Hz para las fases y  $[1 - 100]$ Hz para las amplitudes de una registro de exploración libre del espacio en 2D. En el comodulograma se observan tres regiones de interés. La primera región corresponde a las bandas de fase  $[6-10]$ Hz y de amplitud  $[65-90]$ Hz que se corresponde con el acoplamiento entre *theta* y *gamma*; en segundo lugar una clara región de alto acoplamiento entre las fases  $[6-10]$ Hz y amplitudes  $[10-12]$ Hz que corresponden a *theta* y su primer armónico; y finalmente una región entre  $[1.5 - 4]$ Hz para fase y  $[6-10]$ Hz para amplitud correspondiente al acoplamiento *delta*-*theta*. La intensidad que se presenta en este último es comparable a la intensidad del clásico acoplamiento fase-amplitud entre *theta* y *gamma*. El correspondiente análisis de subrogados con la herramienta COMODO muestra que el acoplamiento medido entre las bandas *delta* y *theta* no es espurio (Figura 4.16B).

Además el orden de magnitud que se reporta con el comodulograma es similar al orden de magnitud hallado cuando se analizan sólo las bandas *delta* y *theta* en los protocolos de carrito (Figura 4.15).



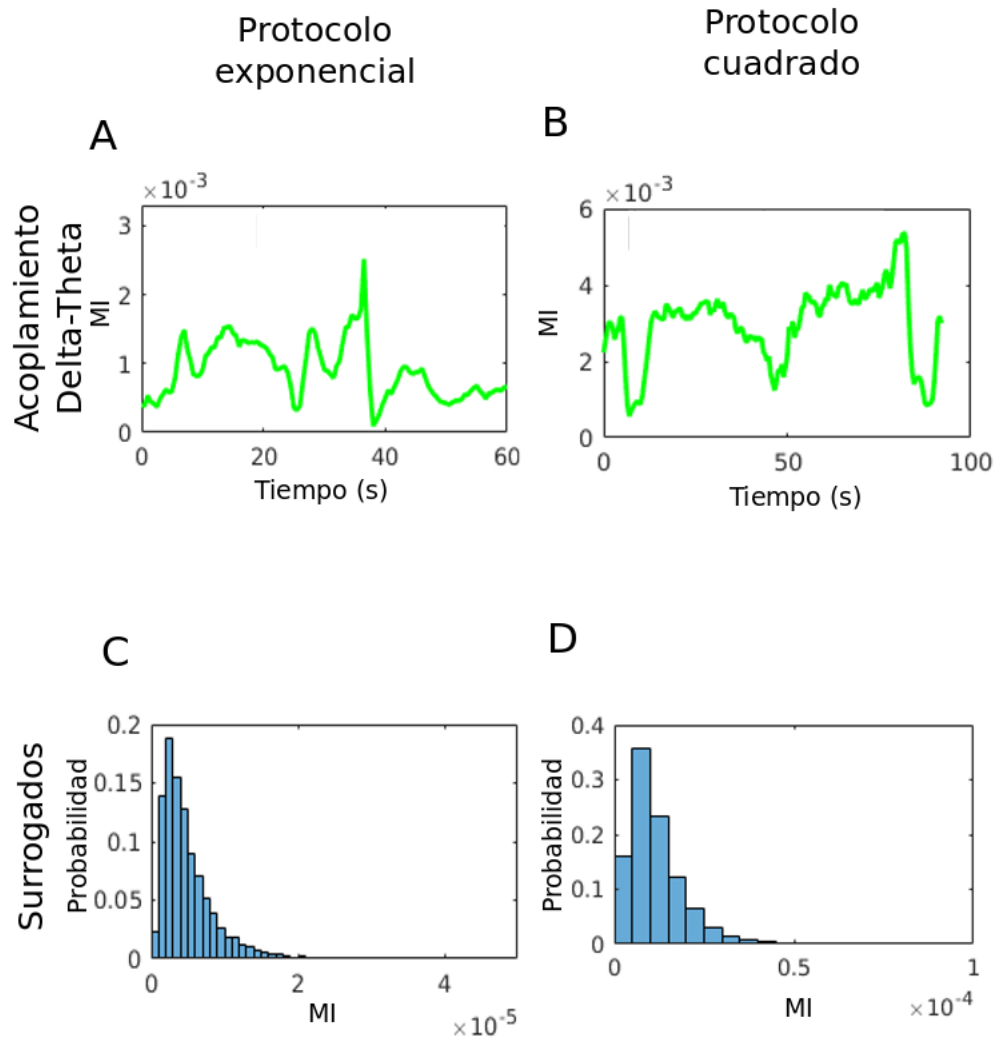
**Figura 4.16: Ejemplos de comodulograma en navegación.** (A) Ejemplo de comodulograma registrado mientras la rata 14566 se encuentra explorando libremente el espacio. El código de colores muestra con colores cálidos (rojos) acoplamientos altos y en azules acoplamientos bajos. El comodulograma se realizó con la herramienta COMODO utilizando un filtro pasabanda con un ancho de banda de 0.5Hz para la señal de amplitud y 0.25Hz para la señal de fase. (B) Análisis de significancia por subrogados. Las áreas blancas indican que el acoplamiento medido es no significativo. Todas las regiones relevantes del panel A se encuentran preservadas. La región de acoplamiento intenso entre la banda de frecuencia moduladora de [6, 10]Hz y frecuencia modulada de [10, 16]Hz corresponde al acoplamiento entre *theta* y su primer armónico.

## Modulación del acoplamiento en el tiempo

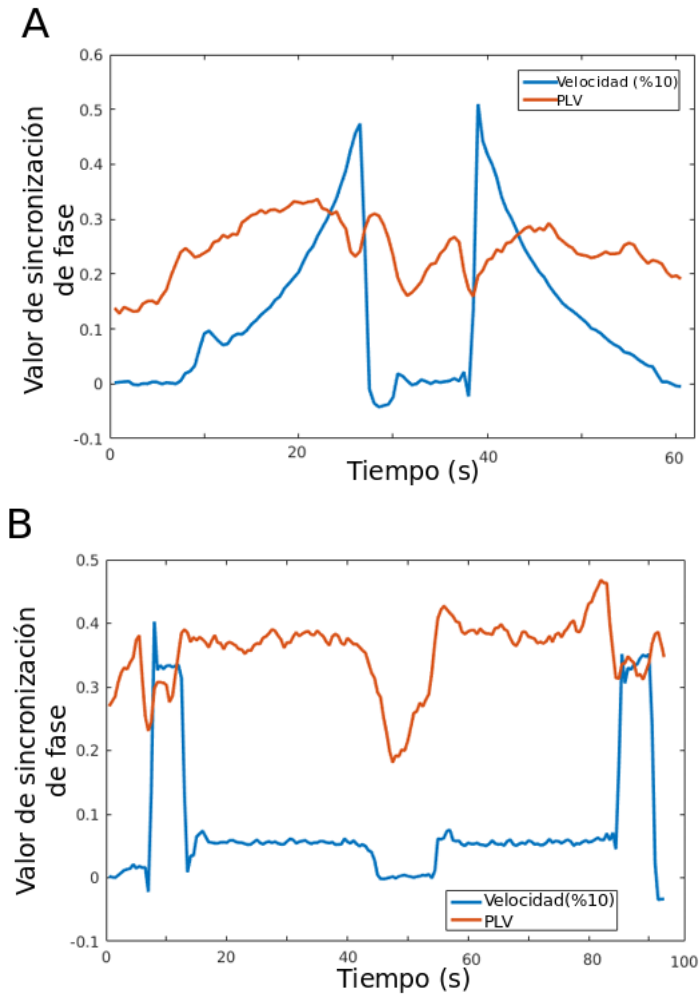
El acoplamiento fase-amplitud entre las señales *delta* y *theta* de CE se encuentra modulado por el estado de comportamiento de la rata, sin embargo la medición del índice de modularidad no permite determinar si el acoplamiento es directo (fase-amplitud) o indirecto (via amplitud-amplitud). La Figura 4.17 muestra la evolución del valor de acoplamiento durante la navegación controlado por el carrito para los protocolos exponencial y cuadrado, y sus correspondientes distribuciones de subrogados. Además, la Figura 4.18 muestra que la misma modulación puede obtenerse con una medida que registra el acoplamiento fase-fase, evidenciando que el hecho de que la modulación pueda medirse entre fase y amplitud no implica que el mecanismo directo de acoplamiento involucre a estas dos variables, sino que puede estar mediado por otra. Este punto es importante a la hora de asignar significado fisiológico a tal acoplamiento. El resultado presentado indica que tal acoplamiento existe, que puede medirse tanto entre fase y amplitud como entre fase y fase, pero no permite realizar una conclusión directa respecto a los mecanismos que lo generan o respecto a cuál es el acoplamiento directo y cuál el indirecto.

En la Figura 4.17A se observa que el valor del índice de modularidad se modifica en las diferentes regiones del experimento, por ejemplo en las regiones donde el carrito se encuentra quieto. Este fenómeno resulta más evidente en el protocolo cuadrado (Figura 4.17B) donde en el intervalo [7-13]s y [90-96]s el índice de modularidad decrece a  $1 \times 10^{-3}$ , y aumenta a  $3 \times 10^{-3}$  aproximadamente en los intervalos [13-48]s y [55-90]s, que se corresponden con los períodos de alta velocidad y baja velocidad respectivamente. Este análisis es una primera evidencia de la existencia de un acoplamiento modulado por la velocidad, resultados que se presentan en la Sec. 4.2.3: *Modulación del acoplamiento con la velocidad*. Además se observa asimetría en los valores de acoplamiento entre los segmentos correspondientes a la dirección derecha e izquierda ([0-48]s y [48-96]s para la rata con protocolo de velocidad cuadrado; y [0,31]s y [31,62]s para el exponencial). Un análisis más detallado de este fenómeno se presentará en la Sec. 4.2.3: *Modulación del acoplamiento por aceleración o dirección* que tiene el objetivo de analizar cuáles son las variables cinemáticas que importan en la modulación de estos ritmos colectivos.

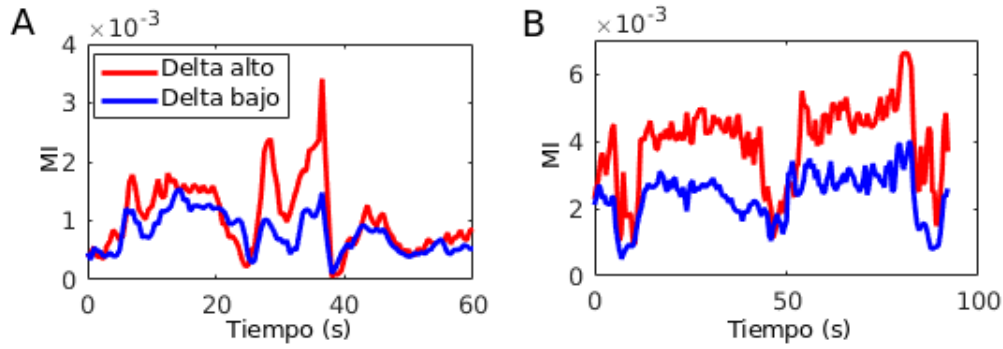
Para verificar que los índices de modularidad no son espurios se realiza un análisis por subrogados siguiendo el procedimiento descrito en la Sec. 4.1.3. Particularmente, en este caso, los subrogados se computan con las señales segundo a segundo. Es decir, se realiza el procedimiento descrito para cada una de las señales de fase y amplitud obtenidas segundo a segundo. Se repite el procedimiento 1000 veces, y se reporta en las Figura 4.17C y 4.17D las distribuciones de índice de modularidad para los subrogados obtenidos. Estos valores resultan ser al menos un orden de magnitud menor a los que



**Figura 4.17: Modulación en el tiempo del MI.** Análisis de la modulación del acoplamiento fase-amplitud entre las bandas *delta* y *theta* en el tiempo. Se muestran dos ejemplos para los protocolos exponencial (A) y cuadrado (B). Se presentan además los histogramas correspondientes a los valores de surrogados obtenidos para protocolo exponencial (C), protocolo cuadrado (D).



**Figura 4.18:** Modulación en el tiempo del *Phase locking value* PLV. Análisis de la modulación del acoplamiento fase-fase entre las bandas *delta* y *theta* en el tiempo. Se incluye el valor de *phase locking value* (naranja) y el perfil de velocidad (azul) rescaleada por 0.1. Se muestran dos ejemplos para los protocolos exponencial (A) y cuadrado (B).



**Figura 4.19:** Efecto del altas y bajas amplitudes de la banda de frecuencia en la modulación del MI para las ratas con protocolo aprendido. (A) Rata 14566 con protocolo exponencial. (B) Rata 14570 con protocolo cuadrado.

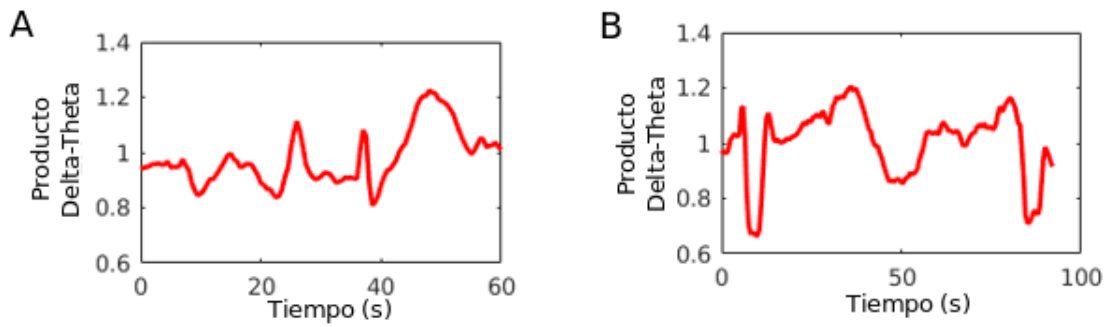
se reportan en el tiempo, asegurando así que el índice de modulación es significativo.

El acoplamiento fase amplitud entre *delta* y *theta* es dependiente del tiempo en el experimento presentado, y dicha dependencia no tiene el mismo comportamiento que las amplitudes de las señales de frecuencia involucradas en el análisis. Por ejemplo, durante el estado de reposo el índice de modularidad es menor que durante el movimiento a velocidad lenta, y mayor que en movimiento rápido, mientras que las modulaciones de la señal de amplitud son monótonamente creciente (*theta*) o monótonamente decreciente (*delta*) con la velocidad. Este fenómeno es un primer indicio de que la modulación en el acoplamiento medido con el índice de modularidad no se encuentra determinada por la amplitud de alguna de las señales involucradas. Para terminar de verificar esta afirmación, se realiza el mismo análisis separando señales de baja y alta amplitud, y se presentan los resultados en la Sec. 4.2.3: *Amplitud de delta e índice de modularidad*.

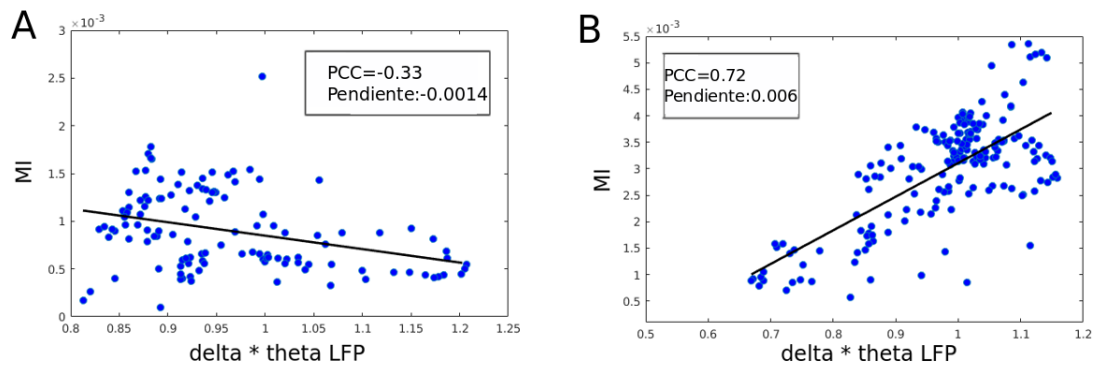
El comportamiento no monótono de la modulación del MI sugiere que el factor de acoplamiento encontrado podría ser simplemente el resultado de realizar un producto (o batido) de las señales de amplitud de baja y alta frecuencia. Este análisis se presenta en también en la Sec. 4.2.3: *Amplitud de delta e índice de modularidad*.

### Amplitud de *delta* e índice de modularidad

Para asegurar que la amplitud de la señal de baja frecuencia no modula enteramente el acoplamiento se separan los datos de fase y amplitud en dos grupos: el primero corresponde a valores de amplitud normalizada de *delta* mayores a 1 y el segundo a valores de amplitud normalizada de *delta* menores a 1. En la Figura 4.19 se presenta el índice de modularidad como función del tiempo en estas dos condiciones. Para las dos ratas analizadas con protocolo aprendido se observa que la modulación del MI sigue el mismo perfil de variación en distintos tiempos (correspondientes a diferentes condiciones cinemáticas), aunque cambian los valores absolutos. Combinando este resultado con lo anteriormente mencionado respecto a la modificación no monótona del MI en



**Figura 4.20: MI como producto de amplitudes.** Producto entre las señales medias de amplitud en banda *delta* y *theta* para dos protocolos deterministas. (A) Rata 14566 con protocolo exponencial. (B) Rata 14570 con protocolo cuadrado.



**Figura 4.21: MI vs producto de amplitudes.** Índice de modularidad como función del producto entre la amplitud en banda *theta* y *delta* segundo a segundo para las ratas: (A) 14566 con protocolo exponencial y (B) rata 14570 con protocolo cuadrado. Se presenta en el recuadro el valor del coeficiente de correlación de Pearson del ajuste lineal y la pendiente.

comparación a la modulación monótonamente creciente y decreciente de las amplitudes *theta* y *delta* respectivamente, se concluye que la modulación del MI no depende sólo de la amplitud de *delta*.

Sin embargo, la inspección visual de la señal generada como el producto de las series temporales de amplitud de baja y alta frecuencia muestran que el índice de modularidad podría encontrarse relacionado con el producto de estas amplitudes, mostrando así la existencia de un batido entre estas dos bandas de frecuencia. Además de poder demostrarse esto, se tendría un mecanismo directo para computar el acoplamiento en el tiempo para protocolos de libre navegación sin requerir cantidades considerable de datos sujetos a una misma velocidad.

La Figura 4.20 muestra las señales obtenidas como el producto de las reportadas en la Figura 4.12, mientras que en la Figura 4.21 se presenta el MI versus el producto de las amplitudes *delta* y *theta* segundo a segundo, con su correspondiente ajuste lineal. Dadas las diferencias entre ambos resultados la interpretación de MI como el producto de las señales de amplitud no resulta concluyente.



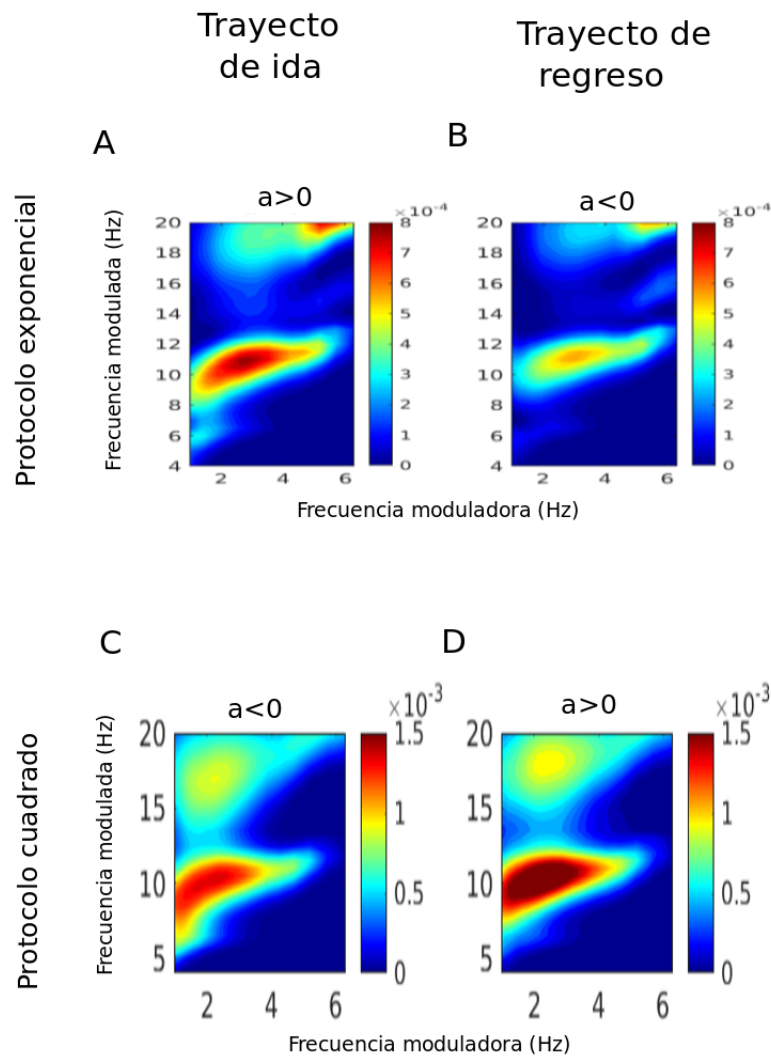
### Modulación del acoplamiento con la aceleración o la dirección

El análisis del acoplamiento fase-amplitud entre las oscilaciones de la banda *delta* y la banda *theta* revelan la existencia de una modulación en el tiempo que puede deberse a múltiples factores cinemáticos. En primer lugar se analizan las diferencias entre los trayectos que corresponden a la ida y vuelta de las ratas en el protocolo determinista. Este análisis se sustenta en la evidencia presentada en la Figura 4.17 donde se observa que los gráficos son asimétricos respecto del punto medio (donde cada lado representa una dirección o aceleración).

En los protocolos deterministas aceleración y dirección se encuentra correlacionadas ya que siempre que la rata se dirige hacia una dirección lo hace con un signo (positivo o negativo) de aceleración y este es el mismo a lo largo de todas las repeticiones. Sin embargo, el hecho de que el protocolo cuadrado y el exponencial tengan sus aceleraciones con igual signo en direcciones opuestas permitirá desambiguar los efectos debidos a una u otra característica del comportamiento.

Utilizando la herramienta COMODO se computan todos los comodulogramas para cada día de registro separando los trayectos de ida (derecha) y vuelta (izquierda). Cada día de registro se compone del orden de 15 a 20 repeticiones del experimento. Se concatenan los datos correspondientes a los trayectos de ida en todas las repeticiones de un mismo día, y luego se promedian todos los comodulogramas de los diferentes días, y lo mismo se hace separadamente para los trayectos de vuelta. Este procedimiento muestra que existe una asimetría en los valores de acoplamiento cuando se comparan las dos direccionalidades. La Figura 4.22 presenta evidencia de que la variable que controla esta asimetría no es la direccionalidad, sino la aceleración. En la Figura 4.22A se muestra la separación entre la ida y la vuelta para el protocolo de velocidad exponencial. En este protocolo el segmento de ida corresponde siempre a aceleración positiva, mientras que el de regreso a aceleración negativa. En el tramo hacia la derecha se evidencia una región de acoplamiento entre las bandas *delta* y *theta*, que disminuye su intensidad en el tramo hacia la izquierda. Este resultado se ve contrapuesto con el de la Figura 4.22B, donde la región de acoplamiento entre *delta* y *theta* es más intensa durante el regreso. Sin embargo, esta última figura corresponde al protocolo cuadrado donde las aceleraciones (si bien ocurren en un único punto del trayecto) tienen el signo opuesto. Los valores de índice de modulación son el mismo orden que los típicamente reportados en la literatura para acoplamientos entre *theta* y *gamma*.

La Figura 4.22 sugiere que un posible factor que controla la intensidad del acoplamiento al comparar direcciones es la aceleración, sin embargo es necesario mostrar evidencias de que las diferencias encontradas son significativas. Las Figuras 4.23 y 4.24 presentan el análisis de significancia considerando únicamente las bandas de interés *delta* ([1,5 – 4]Hz) y *theta* ([6 – 12]Hz), que son aquellas entre las que se evidenció



**Figura 4.22: Comodulogramas en aceleración.** Comodulograma de registros en las ratas (A) 14566 con protocolo de velocidad exponencial, (B) 14570 con protocolo de velocidad cuadrado, separando en ambos casos los trayectos en donde las aceleraciones que ocurren son positivas o negativas. En el caso (A) la aceleración es continuamente positiva o negativa, mientras que en el caso (B) la aceleración tiene un único salto discontinuo positivo o negativo. El color rojo indica mayor acoplamiento mientras que el azul indica acoplamiento nulo.

acoplamiento intenso en la Figura 4.22 para los protocolos exponencial y cuadrado, respectivamente.

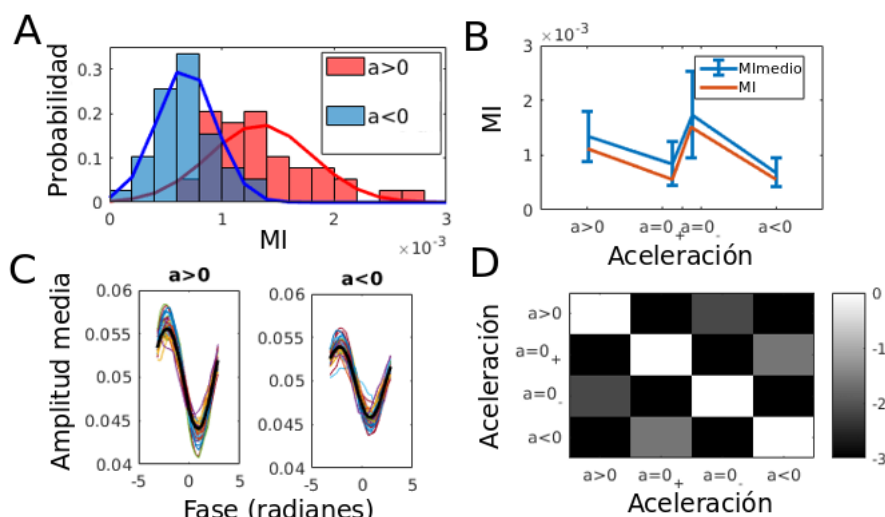
Para verificar si los índice de acoplamiento obtenidos en dos condiciones distintas son significativamente distintos, hay que constatar si la diferencia entre ambos es mayor que la incerteza en la determinación de cada valor. Para estimar dicha incerteza, es necesario estimar el índice en múltiples muestras. Una solución sería computar un índice de modulación para cada repetición del experimento separando los trayectos con distinta aceleración (o distinta dirección). Sin embargo, segmentos de corta longitud producen histogramas de amplitud media versus fase que son ampliamente más ruidosos que los que se reportan en la Figura 4.15, y que por ende resultan en una sobreestimación del MI. Una solución de compromiso consiste en agrupar varias repeticiones del experimento, y computar un índice de modularidad por grupo. Particularmente, para este análisis se agrupan 5 repeticiones del experimento en el caso del protocolo cuadrado y 10 en el caso del protocolo exponencial. La elección de estos valores se basa en una búsqueda del mínimo número de repeticiones que debía tener cada grupo para obtener histogramas de modulación que parecen visualmente no ruidosos. Ejemplos de los histogramas obtenidos con este procedimiento se muestran en la Figura 4.23C y Figura 4.24C. Sobre estos mismos se muestra (en color negro) el histograma que se obtiene utilizando todos los datos.

De esta manera se construyen histogramas para los valores de MI en ambas direcciones, como muestra la Figuras 4.23A y 4.24A. La evolución de las medias de estos histogramas y sus desviaciones estándar, así como también el resultado que se obtendría juntando todos los datos (como en la Figura 4.22), se presentan en las Figuras 4.23B y 4.24B. Ambas figuras muestran que los valores de MI obtenidos agrupando 10 o 5 repeticiones sobre-estiman el que se obtiene agrupando todos los datos. Sin embargo la tendencia de los valores medios de MI (curva azul) en diferentes condiciones de aceleración es la misma que los valores totales (curva naranja). Con ambos protocolos se verifica que el acoplamiento es mayor en las regiones con aceleración positiva, implicando que en estos protocolos, el MI está más modulado por el signo de la aceleración que por la direccionalidad del movimiento.

Finalmente las Figuras 4.23D y 4.24D muestra que las diferencias entre los MI con aceleración positiva y negativa son significativamente diferentes al 99.9% (matriz de significancia estadística al comparar  $a > 0$  y  $a < 0$ ).

Este análisis sugiere entonces que una de las variables responsables del cambio en el índice de acoplamiento sería la aceleración. Sin embargo, para poder desacoplarla totalmente de la dirección es necesario realizar un mismo análisis separando en direcciones donde las aceleraciones pueden ser positivas o negativas. Para realizar este análisis se recurre a las ratas con protocolo aleatorio.

En el segmento [100–300]cm del trayecto lineal (tanto a la ida como en el regreso) las

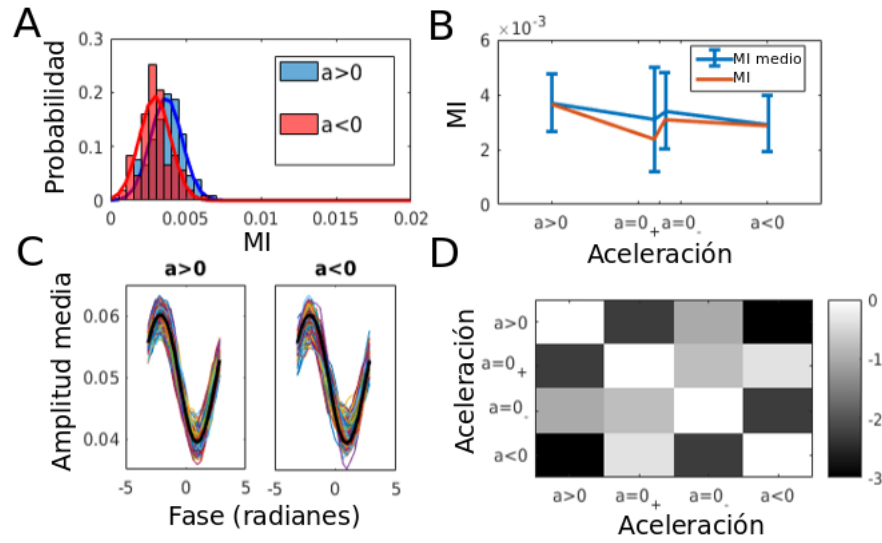


**Figura 4.23: Significancia estadística del MI en aceleración: protocolo exponencial.**

Análisis de significancia estadística para la diferencia en el acoplamiento en distintas aceleraciones. (A) Distribución de valores de acoplamiento correspondientes a  $a > 0$  y  $a < 0$  y sus correspondientes ajustes gaussianos. (B) Modulación del valor medio de MI con las diferentes condiciones de aceleración, y además el MI computado con la totalidad de los datos sin barras de error. (C) Ejemplos de histogramas de amplitud media en banda *theta* para cada fase en banda *delta* en las distintas condiciones de aceleración: en colores se muestran los histogramas correspondientes a los datos para cada aceleración promediados sobre 10 repeticiones del experimento para la rata 14566, y en negro el resultado usando todas las repeticiones. (D) Matriz de significancia estadística mostrando los p-valores en escala logarítmica utilizando un t-test para diferenciar las condiciones de aceleración. La escala de grises se satura en  $10^{-3}$ .

ratas con protocolo aleatorio tienen un único cambio en la velocidad que puede ser con aceleración positiva o negativa. Para asegurar que los efectos medidos no corresponden a la aceleración anterior o posterior, se eliminan del análisis el primer y último segundo desde el momento que la rata llega a la posición 100cm (o está por llegar a los 300cm). Para las cuatro ratas se separan todos los segmentos correspondientes al recorrido hacia la derecha de los de recorrido hacia la izquierda, y se presentan los valores de MI correspondientes.

La Figura 4.25A presenta los histogramas de amplitud que se obtienen para las cuatro ratas con protocolo aleatorio en los registros de CE izquierda (panel superior) y CE derecha (panel inferior). Aquellos valores de MI que resultan de histogramas ruidosos o de poca amplitud son un orden de magnitud menores a los presentados en los análisis anteriores: ratas 1, 2 y 3 en CE izquierda; y rata 2 y 4 en CE derecha. Por otro lado, los MI que se reportan de histogramas no ruidosos, con una clara ondulación (rata 3 en CE izquierda y ratas 1, 3 y 4 de CE derecha) no presentan una clara tendencia respecto a la existencia de una dirección donde el MI sea mayor. Por ejemplo, para la rata 3 en CE izquierda el MI es mayor en la dirección derecha mientras que para CE derecha el MI es mayor para la dirección izquierda. Para reportar significancia es necesario un análisis similar al reportado en las Figuras 4.23 y 4.24, sin embargo



**Figura 4.24: Significancia estadística del MI en aceleración: protocolo cuadrado.**

Análisis de significancia estadística para la diferencia en el acoplamiento en distintas aceleraciones. (A) Distribución de valores de acoplamiento correspondientes a  $a > 0$  y  $a < 0$  y sus correspondientes ajustes gaussianos. (B) Modulación del valor medio de MI con las diferentes condiciones de aceleración, y además el MI computado con la totalidad de los datos sin barras de error. (C) Ejemplos de histogramas de amplitud media en banda *theta* para cada fase en banda *delta* en las distintas condiciones de aceleración: en colores se muestran los histogramas correspondientes a los datos para cada aceleración promediados sobre 5 repeticiones del experimento para la rata 14570, y en negro el resultado usando todas las repeticiones. (D) matriz de significancia estadística mostrando los p-valores en escala logarítmica utilizando un t-test para diferenciar las condiciones de aceleración. La escala de grises se satura en  $10^{-3}$ .

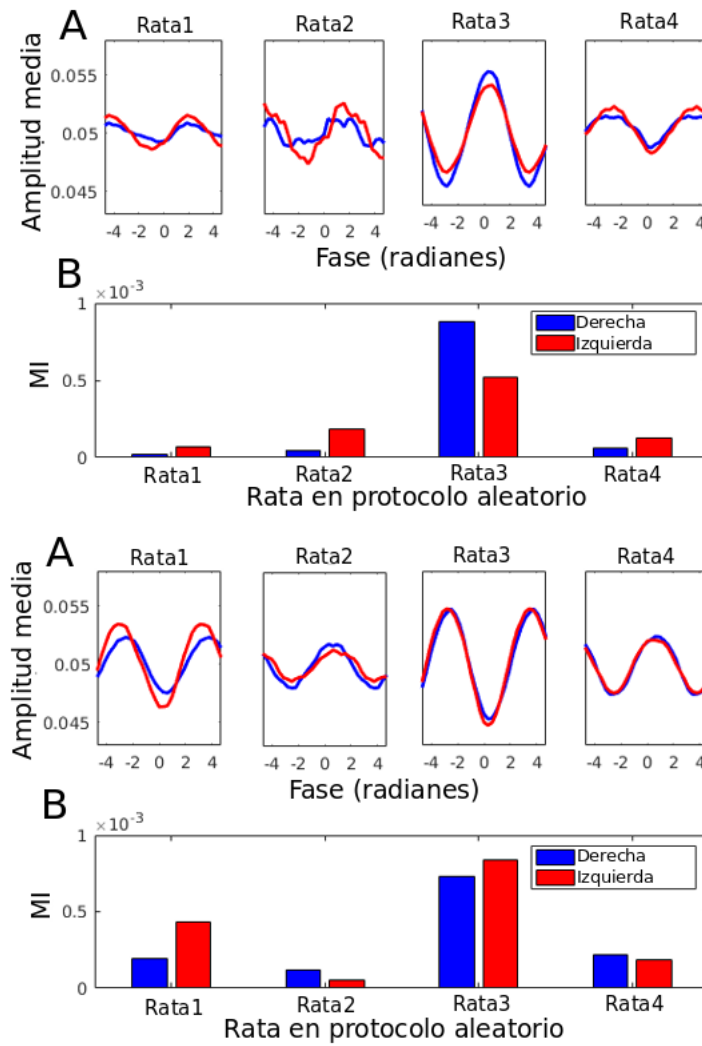
los histogramas de amplitud que resultan de tomar las señales segmentadas en estos protocolos resultan altamente ruidosas y con valores de MI poco confiables.

El análisis en aceleraciones (en protocolos deterministas) y direcciones (en protocolos aleatorios) permite concluir que la aceleración controla el MI más que la dirección de movimiento. Por otro lado, la Figura 4.17 muestra que para cada dirección o aceleración en los protocolos deterministas el MI no es el mismo, y de hecho pareciera estar también correlacionado con el perfil de velocidades, como se había sugerido anteriormente.

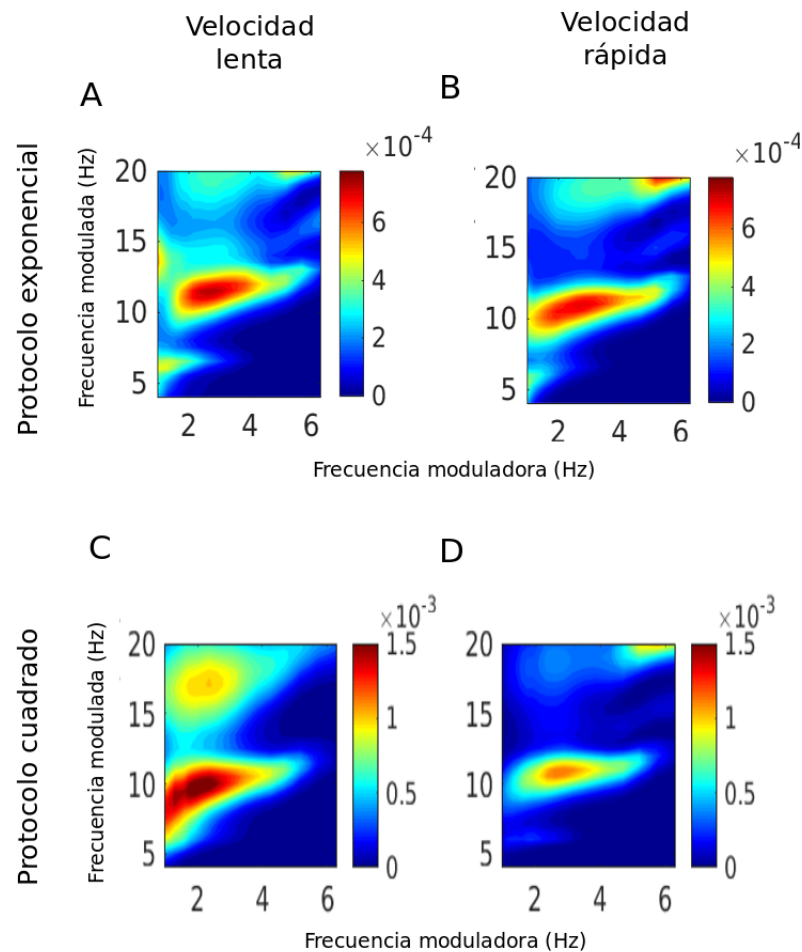
### Modulación del acoplamiento con la velocidad

El análisis en el tiempo muestra indicios preliminares que sugieren que otra de las variables que controla la modulación del acoplamiento entre las bandas *delta* y *theta* es la velocidad. El protocolo de carrito con velocidad controlada permite realizar el mismo análisis sujeto a regiones de velocidad aproximadamente constante que aportan, además de mayor robustez en el cómputo de la medida del acoplamiento, la seguridad de que el estímulo cinemático tiene pocas variaciones.

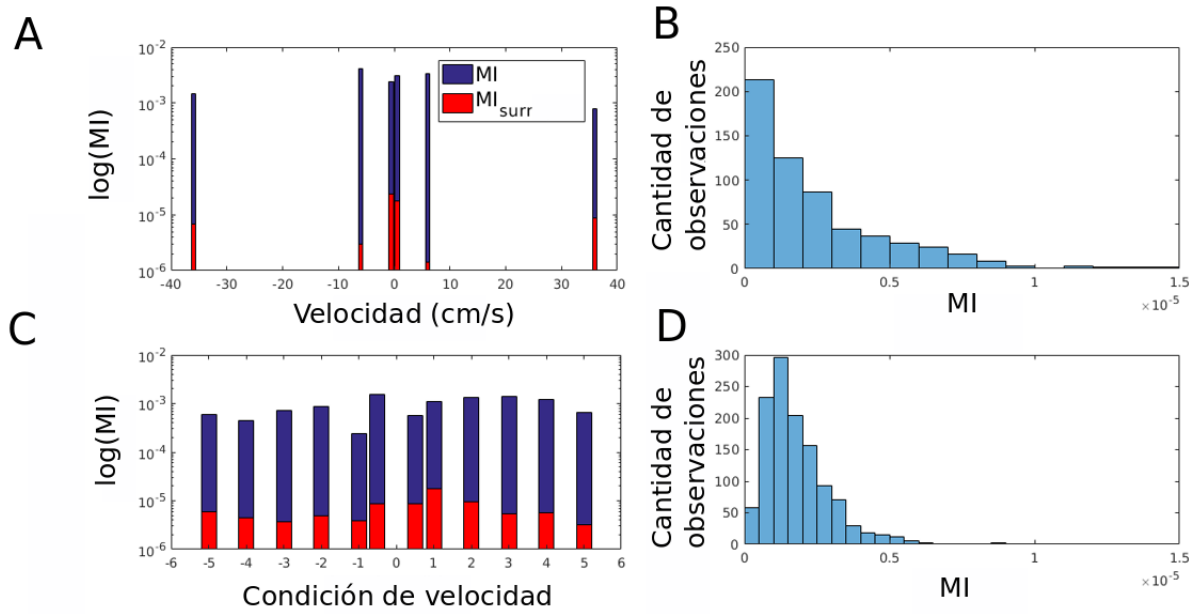
En ambos protocolos aprendidos la intensidad del acoplamiento para velocidades bajas (Figuras 4.26A y 4.26C) es mayor a la correspondiente a velocidades altas (Figuras 4.26B y 4.26D). Sin embargo, resulta difícil discernir de estos gráficos si tales



**Figura 4.25: MI en direcciones para protocolos aleatorios.** (A) Ejemplos de los histogramas de amplitud de la señal de alta frecuencia como función de la fase de baja frecuencia para las diferentes direcciones de movimiento de la rata independiente del signo de la aceleración. En rojo dirección izquierda y en azul dirección derecha. (B) Valores de MI calculados a partir de los histogramas de (A) para direcciones izquierda (rojo) y derecha (azul). Se muestran cuatro ratas diferentes que corren con el protocolo aleatorio. Panel superior: CE izquierda. Panel inferior: CE derecha.



**Figura 4.26: Comodulogramas en velocidad.** Comodulogramas obtenidos para velocidad alta y baja en los protocolos deterministas. (A) Velocidad baja protocolo exponencial (segmento correspondiente a los primeros 10s del trayecto de ida y últimos 10s del trayecto de regreso). (B) Velocidad alta protocolo exponencial (segmento correspondiente a los últimos 10s del trayecto de ida y primeros 10s del trayecto de regreso). (C) Velocidad baja protocolo cuadrado (6cm/s). (D) Velocidad alta protocolo cuadrado (36cm/s). Los colores más cálidos refieren a índices mayores de acoplamiento.



**Figura 4.27: Análisis de subrogados en velocidad.** Significancia por subrogados para el acoplamiento entre las bandas *delta* y *theta* a distintas velocidades de movimiento. (A) Índice de modulación para las 3 velocidades del protocolo cuadrado (azul) y su correspondiente valor de subrogado (rojo). (B) Histograma de valores de subrogados obtenidos para todas las condiciones de velocidad en el protocolo cuadrado. (C) Índice de modulación para las 6 velocidades del protocolo exponencial (azul) y su correspondiente valor de subrogado (rojo). (D) Histograma de valores de subrogados obtenidos para todas las condiciones de velocidad en el protocolo exponencial. En (A) y (C) los valores de  $MI$  y  $MI_{subrogados}$  se encuentran en escala logarítmica.

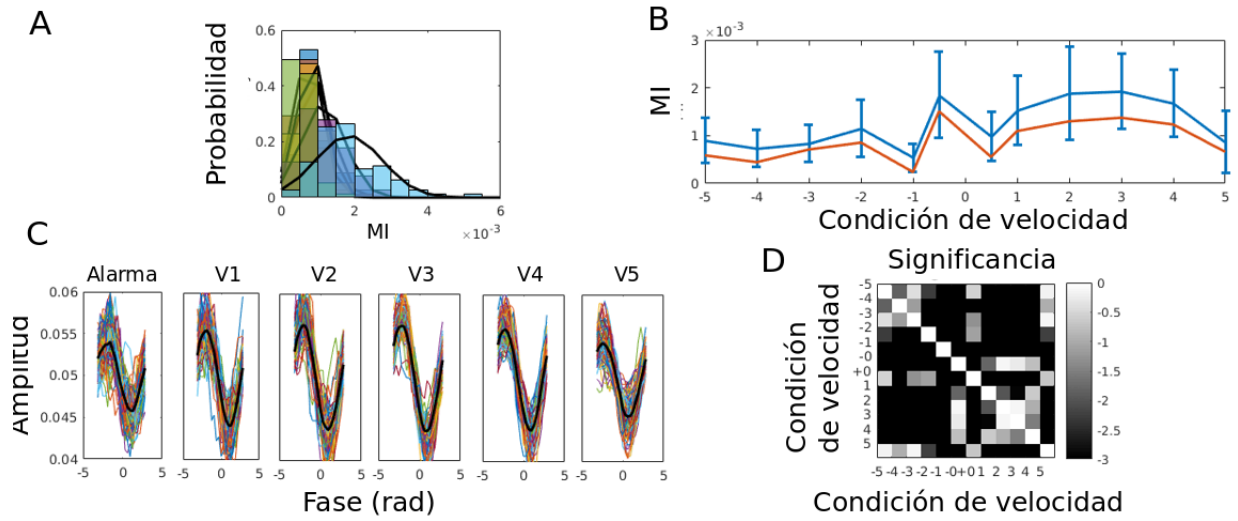
cambios en la intensidad son significativos. El análisis de subrogados para el acoplamiento entre las bandas *delta* y *theta* correspondiente se muestra en la Figura 4.27, mientras que el análisis de significancia se presenta en las Figuras 4.29 y Figuras 4.28.

La Figura 4.26 sugiere que existen diferencias en el acoplamiento para distintas velocidades. El siguiente paso es decidir si tal acoplamiento que se observa entre las bandas  $[1,5 - 4]\text{Hz}$  y  $[6 - 12]\text{Hz}$  para distintas velocidades es significativo en relación a posibles acoplamientos espurios (análisis de subrogados). Con la evidencia previa de que el índice de modulación tiene una componente que involucra a la aceleración, el siguiente análisis se realiza considerando velocidades con signo, ya que cambiar la dirección de movimiento cambia también el signo de la aceleración.

De la Figura 4.27 resulta que los subrogados obtenidos para las diferentes velocidades direccionadas tienen valores al menos un orden de magnitud menor a los de los datos reales. Por lo tanto, los valores obtenidos son resultado de un acoplamiento existente en la señal y no un resultado espurio.

Resta verificar si las diferencias de acoplamiento entre distintas velocidades (con sus correspondientes direcciones) son significativas. Para hacer un análisis de significancia, nuevamente es necesario decidir cómo dividir los datos con el objetivo de construir una distribución de posibles valores de MI.

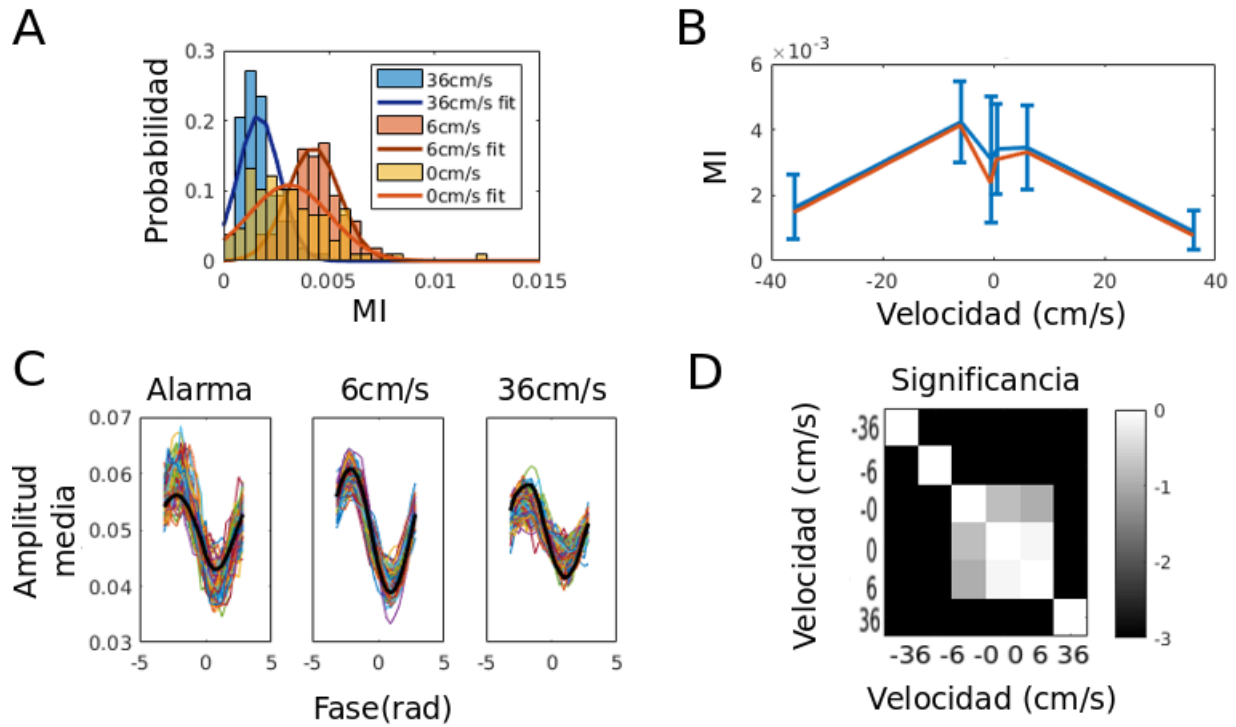




**Figura 4.28: Significancia estadística del MI en velocidad: protocolo exponencial.** (A) Distribución de valores de acoplamiento correspondientes a 0cm/s, y velocidades  $V_1, V_2, V_3, V_4, V_5$  y sus correspondientes ajustes gaussianos. Las velocidades corresponden a segmentos de 4s consecutivos tomados del protocolo exponencial. (B) Valor medio de MI para las diferentes velocidades direccionadas computado con 10 repeticiones y su correspondiente desviación estándar (azul), y MI computado con la totalidad de los datos sin barras de error (naranja). (C) Ejemplos de histogramas de amplitud media en banda  $\theta$  para cada fase en banda  $\delta$  para las seis velocidades con aceleración positiva: en colores se muestran los histogramas correspondientes a los datos promediados sobre 10 repeticiones del experimento, y en negro el resultado usando todas las repeticiones. (D) Matriz de significancia estadística en escala logarítmica calculada a partir del p-valor de un t-test saturada al valor máximo  $10^{-3}$ .

El procedimiento se realiza de la misma manera que en el caso de la aceleración, con la diferencia de que en este caso se juntan los segmentos que corresponden a una misma velocidad y dirección. En el caso del protocolo exponencial (Figura 4.28) se divide el protocolo de movimiento en los mismos segmentos que se presentaron en la Sec.4.2.2 para el análisis de amplitudes de la Figura 4.13 (un segmento correspondiente al período de alerta, 5 segmentos de 4s ; y sus correspondientes retornos). En el caso del protocolo cuadrado (Figura 4.29) las velocidades son las determinadas por el mismo protocolo (0cm/s, 6cm/s y 36cm/s, y sus correspondientes negativos).

Como ya se ha mencionado anteriormente los valores de MI tienen un sesgo positivo cuando se utilizan pocos datos para estimar el histograma, por lo que también en el caso de velocidades se recurre a agrupar los datos tomando grupos de 5 repeticiones del experimento con la misma velocidad en el caso del protocolo cuadrado y 10 repeticiones para el protocolo exponencial. Ejemplos de los histogramas de amplitud que se obtienen con este procedimiento se muestran en las Figuras 4.28C y 4.29C, donde se diferencian las condiciones de velocidad en las regiones de aceleración positiva del protocolo. Se muestra en las mismas figuras el histograma de amplitud que se obtiene cuando se concatenan todos los datos de cada velocidad con direccionalidad y se computa un único MI.



**Figura 4.29: Significancia estadística del MI en velocidad: protocolo cuadrado.** (A) Distribución de valores de acoplamiento correspondientes a 0cm/s, 6cm/s y 36cm/s y sus correspondientes ajustes gaussianos. (B) Valor medio de MI para las diferentes velocidades direccionadas calculado usando 5 repeticiones y su correspondiente desviación estándar (azul), y MI computado con la totalidad de los datos sin barras de error (naranja). (C) Ejemplos de histogramas de amplitud media en banda *theta* para cada fase en banda *delta* para las tres velocidades con aceleración positiva: en colores se muestran los histogramas correspondientes a los datos promediados sobre 5 repeticiones del experimento, y en negro el resultado usando todas las repeticiones. (D) matriz de significancia estadística en escala logarítmica calculada a partir del p-valor de un t-test saturada al valor máximo  $10^{-3}$ .

A partir de los múltiples histogramas de las Figuras 4.29C y 4.28C, se calcula una colección de índices de modularidad y se muestra la distribución de los mismos en las Figuras 4.29A y 4.28A. En la Figura 4.29A comienza a evidenciarse que las distribuciones de MI para distintos comportamientos son significativamente distintas teniendo valores medios mayores para velocidades más bajas. Los valores medios de estas distribuciones (con sus desvíos estándar) se muestran en las Figuras 4.29B y 4.28B, donde además se presenta el índice de modulación obtenido con todos los datos correspondientes a cada velocidad. A pesar de estar positivamente sesgados, los valores obtenidos agrupando 5 o 10 corridas muestran la misma dependencia con la velocidad que los que surgen de agrupar todas las corridas.

En la Figura 4.29B se observa que los valores medios de acoplamiento para 6cm/s son significativamente más altos que para 36cm/s en ambas direcciones. Además, con menor significancia se muestra que en movimiento a velocidades bajas el índice de modulación es mayor al que se obtiene en el estado de alarma. Este fenómeno es asimétrico, resultando más significativo en la región con aceleración positiva (recordar que por el protocolo corresponde a velocidad negativa).

En la Figura 4.28B se presenta la misma tendencia, principalmente en la región de aceleración positiva, donde al pasar del estado de alerta al estado de movimiento aumenta el índice de modulación, y luego la curva sigue una función no monótona con la velocidad volviendo a decaer para velocidades altas.

La significancia estadística de las diferencias presentadas se muestran en las Figuras 4.29D y Figura 4.28D con la matriz de significancia que compara los p-valores resultantes de un t-test y compara todas las condiciones de velocidad direccionada. Las submatrices fuera del sector diagonal muestran que las velocidades con diferente direccionalidad son estadísticamente distinguibles (conjunto de cuadrados esencialmente negros).

En el caso del protocolo cuadrado, cuando la aceleración es positiva (trayecto de regreso), todas las condiciones son estadísticamente distinguibles. Sin embargo, en el segmento de aceleración negativa (trayecto de ida) el MI a velocidad baja no puede distinguirse del MI en el período de quietud. Aún así las diferencias significativas se mantienen en velocidades altas y bajas. En el caso del protocolo exponencial, en el trayecto de regreso, las primeras velocidades rápidas no son distinguibles entre sí, pero si resultan significativamente diferentes a la velocidad más baja y al período de quietud. A su vez, el MI el período de quietud es siempre significativamente distinto de cualquier velocidad de corrida (tanto a la ida como al regreso). En el trayecto de aceleración positiva las velocidades intermedias no son significativamente diferentes entre sí, pero si resultan significativamente distintas a la velocidad más baja y a la velocidad más alta. En conclusión, las diferencias en el MI entre velocidades altas y bajas son significativas en ambos protocolos, con ambas direccionalidades. Queda analizar que ocurre con las

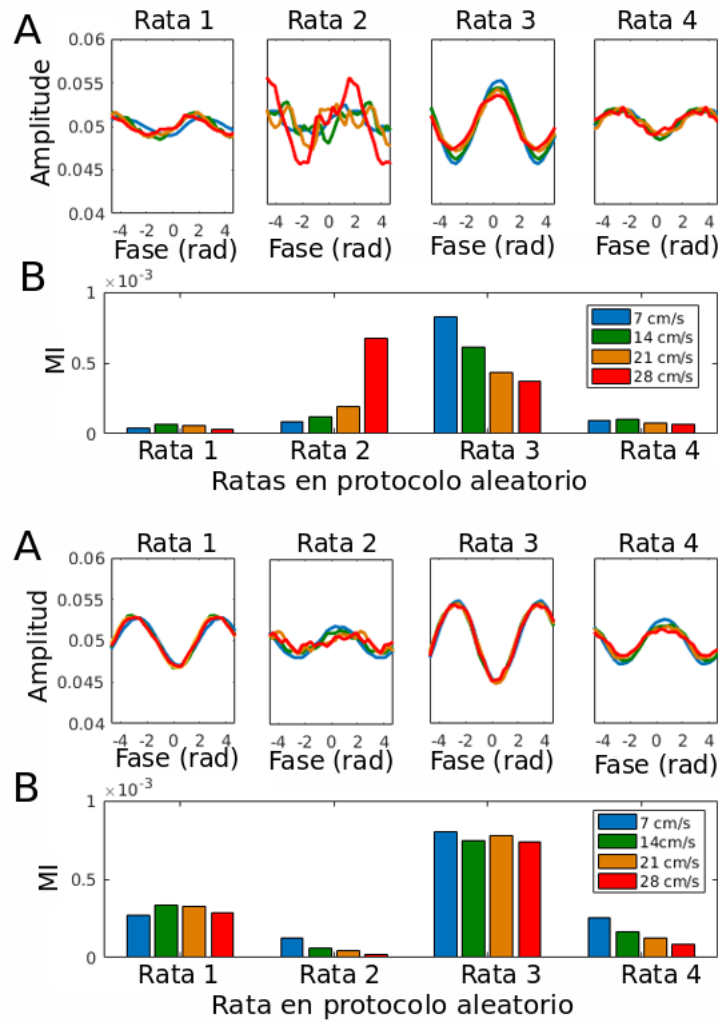
velocidades intermedias, en donde parece que el MI aumenta, llegando a un valle donde las diferencias entre valores no resultan significativas.

Este análisis confirma entonces que existe una dependencia de la intensidad del acoplamiento entre *delta* y *theta* con la velocidad y aceleración de movimiento del animal. Para verificar si existe un efecto neto de la velocidad se recurre al protocolo de velocidad aleatoria y al protocolo de libre navegación en dos dimensiones.

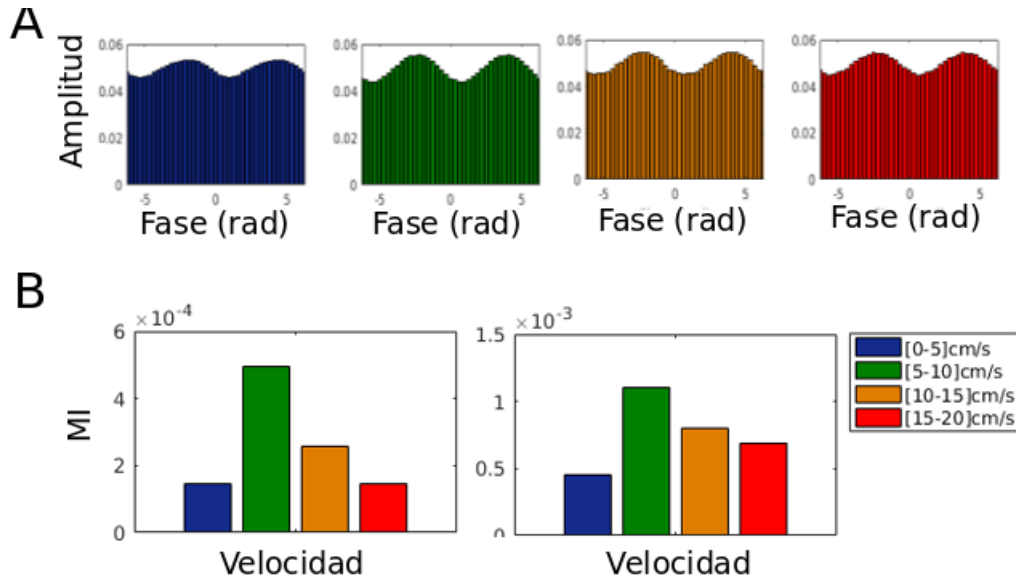
En la Figura 4.30 se presenta el análisis realizado para las distintas velocidades del protocolo aleatorio en cuatro ratas distintas, mostrando en el panel superior los histogramas de amplitud para distintas velocidades y en el inferior los valores de MI. Al igual que en el análisis de dirección, se observa que algunos histogramas son demasiado ruidosos como para computar un índice de modulación (rata 1 y 2 en CE derecha y rata 2 en CE izquierda). El análisis que surge de los restantes histogramas no resulta conclusivo. Por ejemplo, los valores de índice de modularidad obtenidos para la rata 3 en CE izquierda (Figura 4.30B panel izquierdo) muestra una tendencia de disminución del MI con la velocidad (recordar que en este caso no se muestra el estado de quietud), mientras que para la misma rata en CE derecha (Figura 4.30B panel derecho) no hay una clara tendencia con la velocidad. Para la rata 1 en CE derecha (Figura 4.30B panel derecho) la modulación es máxima en velocidades intermedias y mínima en las velocidades mínima y máxima. Y finalmente, para la rata 4 en CE derecha el perfil es similar al de la rata 3 en CE izquierda. Se resalta que la mayoría de estos valores son un orden de magnitud menor a los que se obtienen en los protocolos exponencial y cuadrado.

En la Figura 4.31 se presenta el análisis en velocidades realizado para dos ratas que corren libremente en el entorno 2D. Se separan los registros en cuatro condiciones de velocidad  $[0, 5)\text{cm/s}$ ,  $[5, 10)\text{cm/s}$ ,  $[10, 15)\text{cm/s}$  y  $[15 - 20]\text{cm/s}$ . Luego de filtrar los potenciales de campo completos, y transformarlos para obtener la fase de la señal de  $[1, 5 - 4]\text{Hz}$  y la amplitud de la de  $[6 - 12]\text{Hz}$  se concatenan todos los segmentos que mantienen una velocidad en cada uno de los intervalos por un período mayor de 2s. En la Figura 4.31B se muestran los índices de modulación para estas cuatro condiciones. El perfil encontrado se corresponde con aquel reportado para las ratas con protocolos deterministas, es decir, el índice de modularidad aumenta al pasar del estadio de reposo a locomoción activa y disminuye para velocidades mayores a  $10\text{cm/s}$ . Los órdenes de magnitud del acoplamiento son similares a los que se obtienen con los protocolos deterministas para estas mismas ratas (aunque levemente menores).

En combinación estos resultados muestran que tanto para los protocolos que son aprendidos como para los de libre navegación, donde la rata sabe o decide libremente a qué velocidad correrá, el índice de modularidad tiene una tendencia no monótona con la velocidad, alcanzando un máximo en velocidades intermedias. La falta de evidencia de esta modulación en los protocolos aleatorios sugiere que la posibilidad de anticipar



**Figura 4.30: MI en distintas velocidades para protocolos aleatorios.** (A) Ejemplos de histogramas de amplitud de la señal de alta frecuencia como función de la fase de baja frecuencia para las diferentes velocidades de movimiento. (B) Valores de MI calculados a partir de los histogramas de (A) para las velocidades 7, 14, 21 y 28 cm/s. Se muestran cuatro ratas diferentes que corren con el protocolo aleatorio. Panel superior: CE izquierda. Panel inferior: CE derecha.



**Figura 4.31: MI en distintas velocidades para protocolos de libre navegación.** (A) Histogramas de amplitud de  $\theta$  para cada fase de  $\delta$  en diferentes condiciones de velocidad de una rata (14570) corriendo libremente en un entorno de 2 dimensiones. (B) Índice de modulación delta-theta para diferentes velocidades para las ratas 14566 (izquierda) y 14570 (derecha).

la velocidad condiciona la existencia de la modulación del acoplamiento. De ser así, en los protocolos aprendidos se espera que haya una diferencia entre los primeros días de repetición del protocolo y los últimos. Este análisis se presenta en la Sec.4.2.4, junto con el análisis de aprendizaje de amplitudes en  $\delta$ .

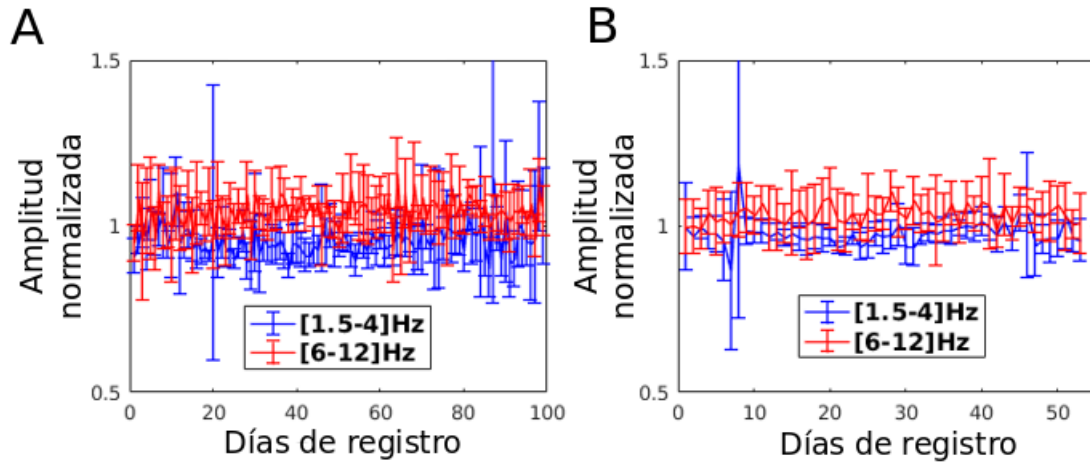
#### 4.2.4. Aprendizaje a lo largo de registros

El ritmo  $\delta$  en corteza prefrontal se encuentra fuertemente vinculado al planeamiento dirigido a objetivos [88]. En los protocolos deterministas analizados en este trabajo la rata tiene por objetivo llegar al final del trayecto donde recibirá una recompensa. Los primeros días del experimento la rata se encuentra menos familiarizada con el protocolo y con las variables que se encontrará en el camino, o con cuál es la tarea que deberá realizar. Sin embargo, se espera que después de reiteradas repeticiones la rata se haya habituado completamente al protocolo y a su tarea.

Se propone ahora determinar si las propiedades del ritmo  $\delta$  descritas en las Sec 4.2.2 y 4.2.3 se modifican cuando se las estudia restringiendo el conjunto de datos a los primeros días o a los últimos días de registro.

##### Aprendizaje de amplitud en banda delta

El objetivo de este análisis es verificar si las modulaciones de la amplitud del ritmo  $\delta$  con la velocidad reportadas en la Sec. 4.2.2 para las ratas con protocolos deterministas se intensifican con el correr del tiempo.

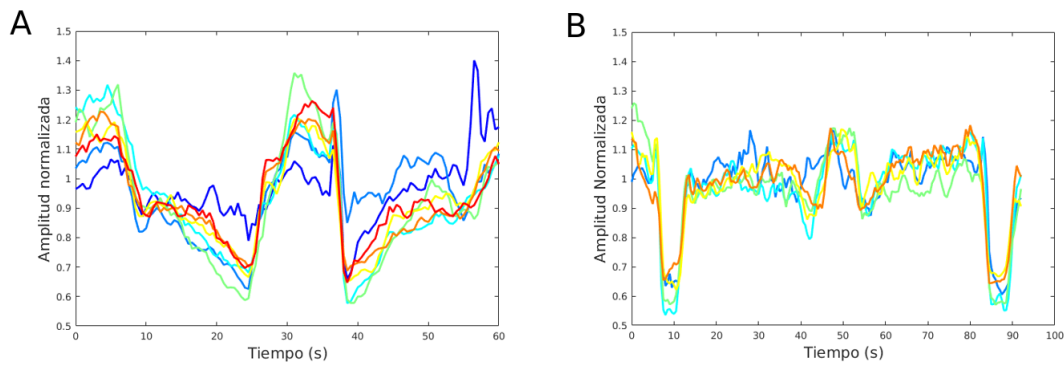


**Figura 4.32: Amplitud media en múltiples días de registro.** Se presenta la amplitud media normalizada y desvío estándar correspondiente a diferentes días de registros (eje x) en las bandas *delta* (azul) y *theta* (rojo). (A) Protocolo exponencial para rata 14566. (B) Protocolo cuadrado para rata 14570.

Sin embargo, aún si se verifica que, con el paso del tiempo, los MI obtenidos con distintas velocidades se diferencian cada vez más unos de otros, es importante constatar si el efecto se debe a una diferenciación paulatina de las señales en distintos estados cinemáticos o a cambios sistemáticos en los LFP originados en cambios en las condiciones globales de registros, que nada tienen que ver con el estado de movimiento del animal. Por ejemplo, si la varianza de las señales aumentará con el correr de los días, ya fuera por una desviación sistemática de los electrodos, una modulación del ruido en la medición, o un artefacto en la normalización, las distribuciones asociadas a distintas velocidades podrían ir separándose paulatinamente. El efecto, sin embargo, sería consecuencia de la no-estacionariedad del proceso de medición, y no del aprendizaje. La Figura 4.32 muestra el valor medio y el desvío estándar de la amplitud de las bandas *theta* y *delta* para cada día de registro completo. La ausencia de diferencias significativas entre los primeros y últimos días confirma que no existen variaciones sistemáticas de las señales medidas a nivel global, es decir, medidas sin diferenciar entre distintos estados de movimiento.

En la Figura 4.33 se presenta la amplitud media en el tiempo computada con el promedio de grupos de 100 repeticiones consecutivas. Es decir, las matrices de  $700 \times 62$  (para el protocolo exponencial) y  $550 \times 96$  (para el protocolo cuadrado), se separan en submatrices de tamaño  $100 \times 62$  y  $100 \times 96$  respectivamente. Se reporta la media respecto a las 100 repeticiones de estas submatrices.

La Figura 4.33 presenta diferencias en el tiempo en los días sucesivos. Sin embargo no hay una clara tendencia conforme pasan los días. Para verificar explícitamente si existen diferencias velocidad-dependientes entre los primeros y últimos días se realiza un test estadístico considerando las primeras 100 repeticiones del experimento y las últimas



**Figura 4.33: Aprendizaje del protocolo en el tiempo.** Evolución de las amplitudes medias de  $\delta$  en el tiempo para distintas etapas del experimento. El código de colores va desde los más fríos referido a los primeros días a los más cálidos lo últimos días. (A) Protocolo exponencial. (B) Protocolo cuadrado.

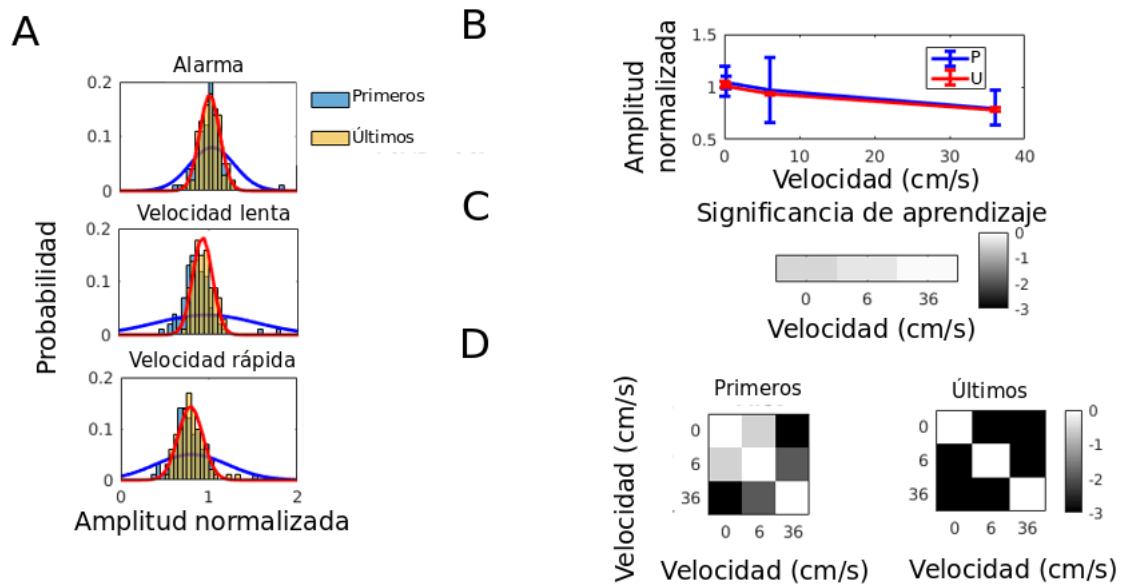
100. El procedimiento para realizar los histogramas correspondientes es el mismo al explicado en la Sec. 4.2.2 con la diferencia de que sólo se involucran 100 valores medios en cada histograma.

Si bien no hay diferencias significativas entre las medias de amplitud en  $\delta$  en los primeros y últimos registros (ver Figura 4.34B y 4.34C), si se observan diferencias en el nivel de significancia con el cual se pueden distinguir las distribuciones correspondientes a distintas velocidades al principio y al final del experimento (Figura 4.34D). Esto se debe a que las distribuciones corren ligeramente sus valores medios y a la vez se hacen más angostas los últimos días.

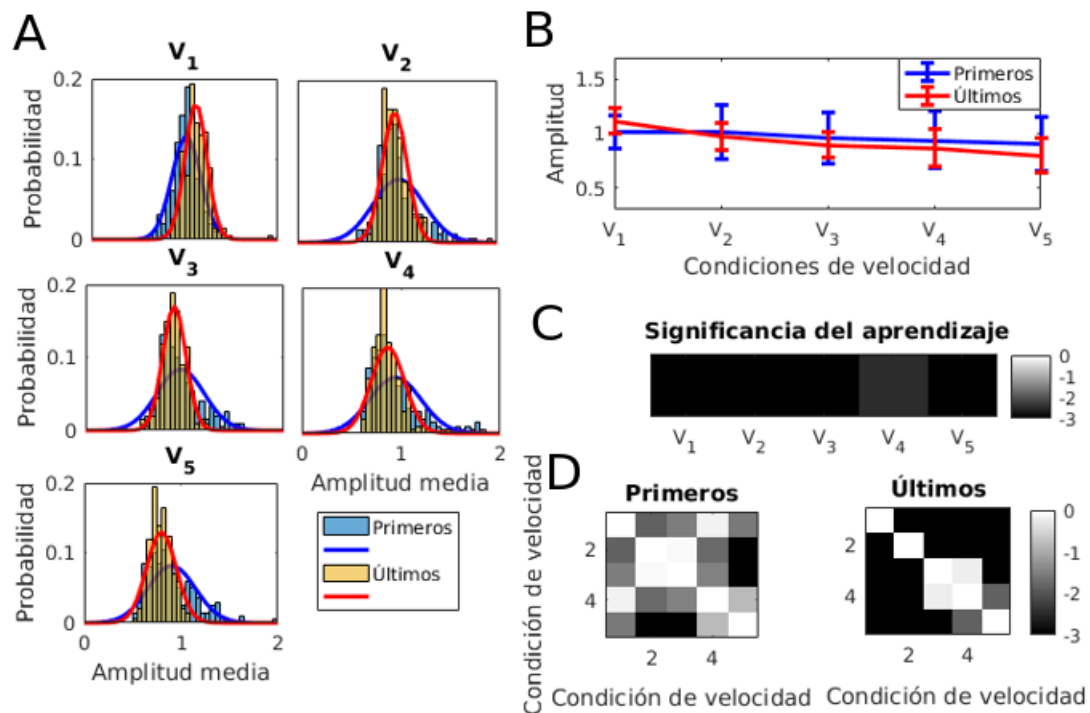
Realizando el mismo procedimiento con el protocolo exponencial se obtiene el mismo resultado respecto a la intensificación de la significancia cuando se comparan amplitudes a distintas velocidades los primeros y los últimos días. Esto significa que, en cierta medida, los valores de amplitud se encuentran directamente vinculados con la velocidad, pero a su vez hay un proceso de aprendizaje que hace que las diferencias se vuelvan más significativas. (ver Figura 4.35). La significancia en la matriz 4.35D muestra que las velocidades bajas son significativamente más distinguibles de las altas en los últimos días aunque existe un rango de velocidades intermedias que no llegan a distinguirse significativamente.

Retomando la Figura 4.14B correspondiente al protocolo aleatorio, se observa que la amplitud media en  $\delta$  para la velocidad 7cm/s es significativamente diferente a las demás velocidades. Sin embargo, las demás velocidades no pueden distinguirse entre sí. Por otro lado, los histogramas correspondientes a este análisis de significancia tienen varianza mucho más amplia que los que corresponden a los protocolos exponencial (Figura 4.13A) y cuadrado (Figura 4.13B). En navegación libre las varianzas de los histogramas correspondientes a diferentes velocidades son también más grandes (Figura 4.14A). En combinación estos resultados sugieren que la velocidad modula la amplitud del ritmo, pero tal modulación se refina cuando la rata aprende un protocolo

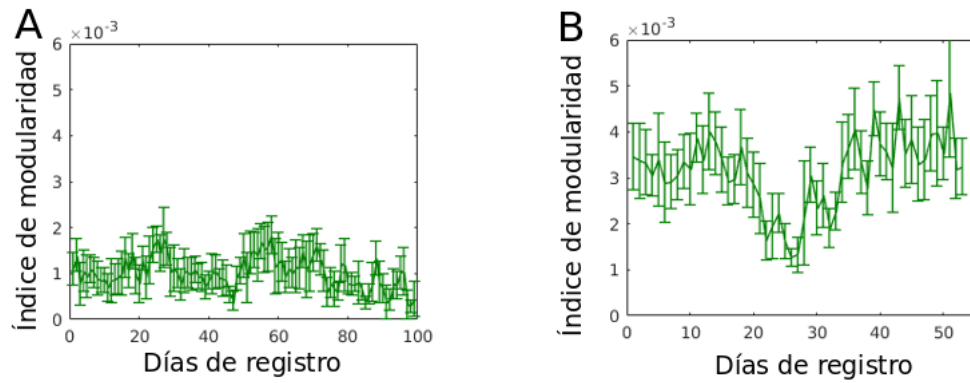




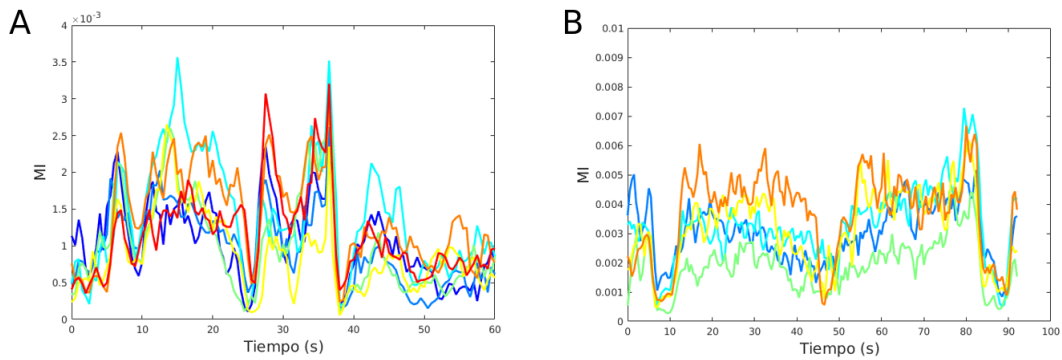
**Figura 4.34: Significancia del aprendizaje de amplitud en el protocolo cuadrado.** (A) Histogramas de amplitud media en los segmentos de velocidad 0cm/s, 6cm/s y 36cm/s separando primeros días de registro (azul) de los últimos (amarillo). (B) Evolución de la media de los histogramas de A para diferentes velocidades en los primeros registros (azul) y últimos registros (rojo). Las barras de error corresponden a los desvíos estándar. (C) Matriz de significancia estadística con la que se distinguen las medias de las primeras repeticiones de las últimas. Se presentan los p-valores de un t-test en escala logarítmica. (D) Matrices de significancia estadística con la que se distinguen las diferentes velocidades en los primeros registros (izquierda) y en los últimos (derecha). La significancia corresponde al p-valor de un t-test en escala logarítmica, y la escala de grises se satura en  $10^{-3}$ .



**Figura 4.35: Significancia del aprendizaje de amplitud.** (A) Histogramas de amplitud media en los segmentos de diferentes velocidades separando primeros días de registro (azul) de los últimos (amarillo). (B) Evolución de la media de los histogramas de A para diferentes velocidades en los primeros registros (azul) y últimos registros (rojo). Las barras de error corresponden al desvío estándar. (C) Matriz de significancia estadística con la que se distinguen las medias de las primeras repeticiones de las últimas. Se presentan los p-valores de un t-test en escala logarítmica. (D) Matrices de significancia estadística con la que se distinguen las diferentes velocidades en los primeros registros (izquierda) y en los últimos (derecha). La significancia corresponde al p-valor de un t-test en escala logarítmica, y la escala de grises se satura en  $10^{-3}$ .



**Figura 4.36: Índice de modularidad en diferentes días de registro.** Se presenta el índice de modularidad medio y desvío estándar correspondiente a diferentes días de registros (eje x). (A) Protocolo exponencial para rata 14566. (B) Protocolo cuadrado para rata 14570.



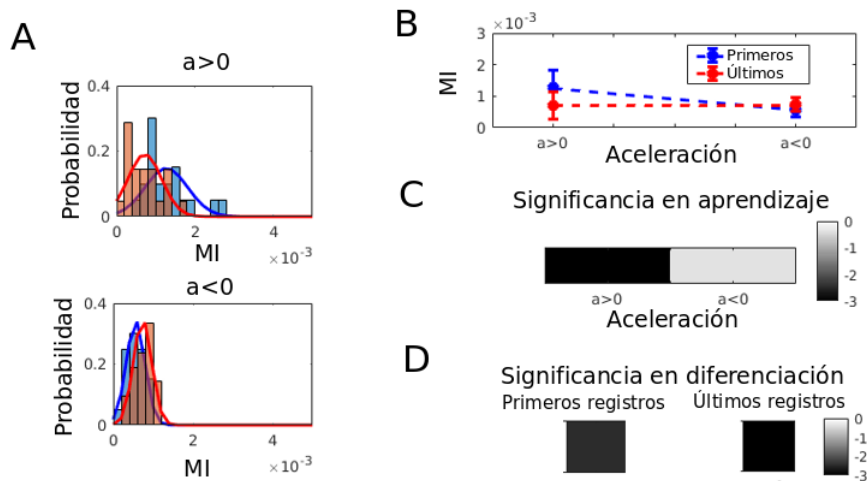
**Figura 4.37: Aprendizaje de la modulación del acoplamiento en el tiempo.** Índice de modularidad como función. Cada curva se computa utilizando 100 repeticiones del experimento. El código de colores va desde los azules que representan los primeros días hacia los rojos que representan los últimos días. (A) Protocolo exponencial. (B) Protocolo cuadrado.

o conoce exactamente la velocidad a la que va a correr.

### Aprendizaje en acoplamiento

Sujeto a la evidencia de que el acoplamiento se encuentra modulado con mayor intensidad por la variable aceleración en los protocolos aprendidos que en los aleatorios, y que lo mismo ocurre con la variable velocidad, se analiza si tales resultados son consecuencia de un aprendizaje a lo largo de los registros. En primer lugar se reporta el MI como función de los días de registro (Figura 4.36) para mostrar que no hay diferencias significativas a nivel general entre los primeros y los últimos días de registro. En la Figura 4.36 se presenta el índice de acoplamiento en el tiempo computado de la misma manera que en la Figura 4.32 para el aprendizaje de amplitudes. En el protocolo cuadrado se observa una no-estacionariedad que involucra las repeticiones intermedias, no afectando los valores de MI de los primeros y los últimos registros.

La diferencia entre la curva naranja y la azul de la Figura 4.37B presenta evidencia de que la modulación del MI por la velocidad cambia a través de los días de registro.

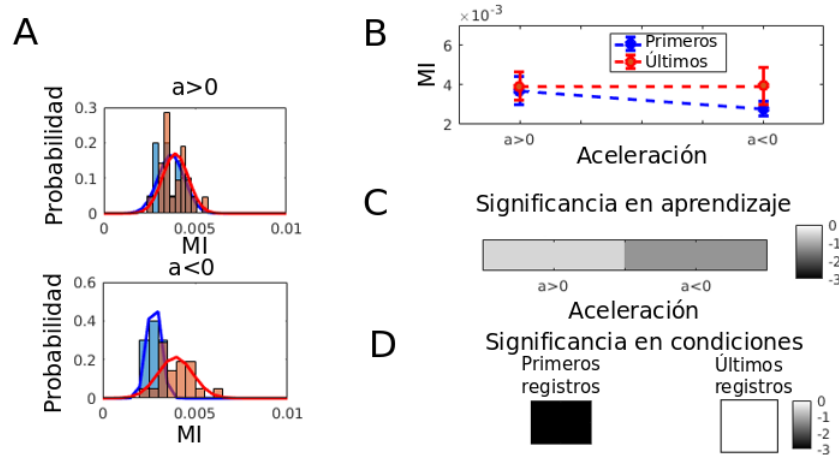


**Figura 4.38: Significancia del aprendizaje de MI con aceleración: protocolo exponencial.** Análisis estadístico respecto a la variable aceleración para el protocolo exponencial. (A) Histogramas de índice de modulación para las condiciones de aceleración positiva (panel superior) y aceleración negativa (panel inferior) separando los primeros 20 valores de MI (azul) de los últimos 20 valores (rojo). (B) Valores medios de las distribuciones de (A) para los primeros días (azul) y últimos días (rojo). Las barras de error corresponden al desvío estándar. (C) Significancia estadística de las diferencias entre los primeros y los últimos días de registro para  $a > 0$  y  $a < 0$ . Los valores corresponden al p-valor de un t-test, y el gráfico se satura a  $10^{-3}$ . (D) Significancia estadística para distinguir los dos signos de aceleración en las primeras repeticiones (izquierda) y las últimas repeticiones (derecha). Los valores corresponden al p-valor de un t-test, y el gráfico se satura a  $10^{-3}$ .

Además, en la misma curva naranja los valores de MI para los trayectos de ida y vuelta alcanzan un mismo valor. Para analizar si estas diferencias son significativas en condiciones de velocidad y aceleración se realiza un t-test como los anteriormente realizados en este capítulo.

La diferencia entre las aceleraciones positivas y negativas presentada en la Sec.4.2.3 se desvanece con el transcurso de los días. Dicho de otra manera, las medias de los valores de acoplamiento para aceleraciones positivas y negativas se vuelven más similares conforme pasan los días de registro. Este resultado se presenta en las Figuras 4.38B y 4.39B, donde se muestra que las curvas rojas (correspondientes a los últimos días) tienden a equilibrarse en las dos condiciones de aceleración. El análisis de significancia presentado en las Figuras 4.38C y 4.39C, indica que existen diferencias significativas en el acoplamiento para el tramo hacia la derecha o ida ( $a < 0$ ) en el protocolo cuadrado y también la ida ( $a > 0$ ) en el protocolo exponencial entre los primeros y los últimos días.

La conjunción de estos análisis con lo que se reporta para la aceleración indican que mientras la rata todavía se encuentra aprendiendo la tarea, lo que domina la diferencia entre los índices de modularidad es el signo de la aceleración. Una vez que la rata aprendió la tarea, el signo de la aceleración no modula más el acoplamiento,

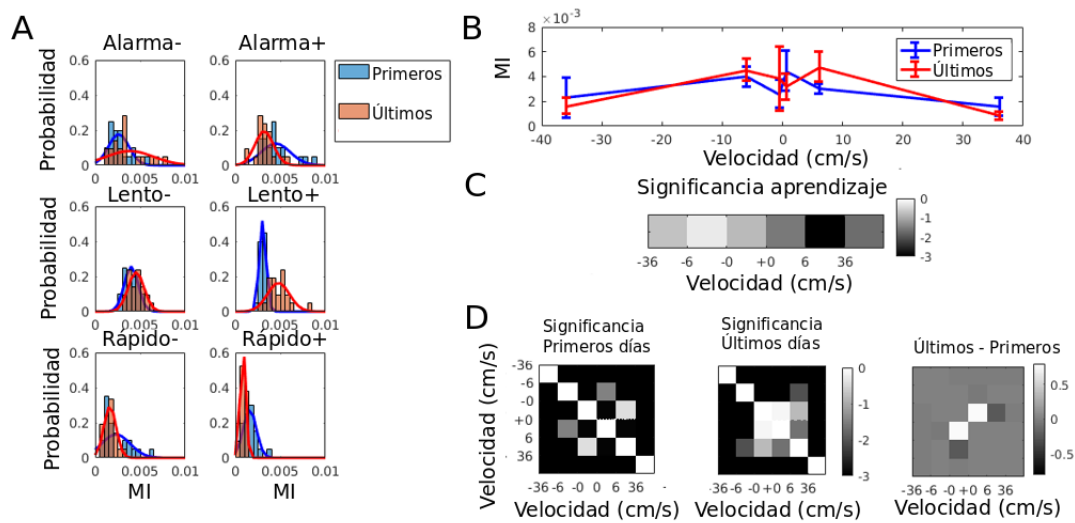


**Figura 4.39: Significancia del aprendizaje de MI con aceleración: protocolo cuadrado.** Análisis estadístico respecto a la variable aceleración para el protocolo cuadrado. **(A)** Histogramas de índice de modulación para las condiciones de aceleración positiva (panel superior) y aceleración negativa (panel inferior) separando los primeros 40 valores de MI (azul) de los últimos 40 valores (rojo). **(B)** Valores medios de las distribuciones de **(A)** para los primeros días (azul) y últimos días (rojo). Las barras de error muestran el desvío estándar. **(C)** Significancia estadística de las diferencias entre los primeros y los últimos días de registro para  $a > 0$  y  $a < 0$ . Los valores corresponden al p-valor de un t-test, y el gráfico se satura a  $10^{-3}$ . **(D)** Significancia estadística para distinguir los dos signos de aceleración en las primeras repeticiones (izquierda) y las últimas repeticiones (derecha). Los valores corresponden al p-valor de un t-test, y el gráfico se satura a  $10^{-3}$ .

y la intensidad del mismo se *adapta*, se nivela para igualarse entre la ida y la vuelta (típicamente tomando el valor que el acoplamiento tiene en el trayecto de regreso).

El hecho de que con el protocolo aleatorio no se evidencian diferencias significativas entre las direcciones coincide con lo reportado en este caso para las ratas con protocolo determinista una vez que han aprendido la tarea, es decir, la direccionalidad de movimiento no es una variable que module el acoplamiento fase amplitud entre *delta* y *theta*.

La modulación en el acoplamiento de la velocidad también se aprende en cierta medida, pero a diferencia de la aceleración, en lugar de anularse las diferencias entre distintas condiciones, a medida que pasa el tiempo las diferencias entre valores de MI se intensifican. En la Figura 4.40B se evidencia cómo la diferencia entre los puntos correspondientes a 6cm/s y 36cm/s (o sus análogos negativos) se separan al pasar de la curva azul (primeros días) a la roja (últimos días). Dichas diferencias son significativas (como muestra la Figura 4.40C). Este resultado confirma lo encontrado, por ejemplo en navegación libre donde el MI se encuentra modulado por la velocidad sin pasar por ningún tipo de aprendizaje. Entonces, la modulación del acoplamiento existe antes del aprendizaje, pero se intensifica con el mismo.



**Figura 4.40: Significancia del aprendizaje de MI con velocidad.** Análisis estadístico respecto a la variable velocidad para el protocolo cuadrado. **(A)** Histogramas de índice de modulación para las condiciones de alarma, 6cm/s (lento) y 36cm/s (rápido) separando dirección derecha (panel derecho) e izquierda (panel izquierdo). Se separan los primeros 20 valores de MI (azul) de los últimos 20 valores (rojo). **(B)** Valores medios y desvío estándar de las distribuciones de **(A)** para los primeros días (azul) y últimos días (rojo). **(C)** Significancia estadística de las diferencias entre los primeros y los últimos días de registro de todas las velocidades direccionadas. Los valores corresponden al p-valor de un t-test, y el gráfico se satura a  $10^{-3}$ . **(D)** Significancia estadística para distinguir las distintas velocidades en las primeras repeticiones (izquierda), las últimas repeticiones (medio) y diferencia entre las matrices de significancia (derecha). Los valores corresponden al p-valor de un t-test, y el gráfico se satura a  $10^{-3}$ .

### 4.3. Discusión

Muchas propiedades de las oscilaciones en el cerebro parecen ser dependientes del estado de comportamiento del sujeto de estudio. Diversos estudios previos mostraron que las propiedades de señales filtradas en banda *theta* en el sistema hipocampal de ratas están correlacionadas con la velocidad a la que corre el animal: la potencia total, potencia en el primer armónico y acoplamiento con la banda *gamma* correlacionan positivamente con la velocidad [80, 89–91]. Además la potencia en la banda *gamma* también ha sido reportada como dependiente de la velocidad, de manera que aumenta monótonamente con la misma [77, 78].

En contraposición, el ritmo *delta* no ha sido altamente estudiado en el sistema hipocampal. El análisis presentado en este capítulo presentamos evidencias de la existencia de una fuerte señal de onda lenta en corteza entorrinal cuyas propiedades son dependientes del comportamiento de la rata.

En primer lugar mostramos que, en aquellos protocolos en donde la rata conoce a qué velocidad va a correr, la amplitud de la señal en la banda *delta* está monótonamente anti-correlacionada con la velocidad. Particularmente la variabilidad en la amplitud de *delta* es significativamente menor en los protocolos donde la rata está familiarizada con el protocolo de velocidad. Este resultado se verifica cuando es obtenido como resultado

del aprendizaje. En ratas en las cuales el protocolo es aprendido, la modulación de la amplitud del ritmo se encuentra presente desde los estadios tempranos del protocolo, y se intensifica disminuyendo su variabilidad cuando la rata es expuesta al mismo estímulo cinemático en múltiples ocasiones.

El ritmo lento *delta* se encuentra vinculado a la oscilación predominante *theta* en todos los protocolos cinemáticos vía acoplamiento fase-amplitud. La intensidad de tal acoplamiento es mayor en los protocolos aprendidos, ligeramente menor en los de navegación libre y mucho menor en los aleatorios. Esta modulación es independiente de las amplitudes de las señales de fase y amplitud involucradas.

En los protocolos con múltiples repeticiones idénticas (exponencial y cuadrado) el MI está modulado por la velocidad y la aceleración. En cada uno de estos protocolos, la modulación por aceleración es indistinguible de la modulación por dirección. Sin embargo, comparando los resultados de ambos protocolos, concluimos que la modulación viene dictada por la aceleración, y no por la dirección. Esta conclusión se ve reforzada por el hecho de que en el protocolo aleatorio no hay evidencia de modulación por dirección. Comparando los valores de MI que se obtienen en las primeras y últimas repeticiones del experimento, concluimos que en los protocolos exponencial y cuadrado, la aceleración inicialmente modula al MI, pero ese efecto se desvanece con el correr de los días, reafirmando así que no existe modulación del MI por dirección. Tanto en los protocolos aprendidos como en el de navegación libre el acoplamiento se encuentra modulado por la velocidad de manera no monótona, tomando valores bajos para velocidades nulas y altas y teniendo un máximo en velocidades intermedias. Este resultado no es evidente en las ratas con protocolo aleatorio, a veces porque los valores de acoplamiento son de por sí más chicos y otras porque los perfiles de modulación son contradictorios. En los protocolos aprendidos la modulación aparece en estadios tempranos del experimento y se intensifica hacia los últimos días.

Este análisis deja afuera muchas variables que pueden afectar la respuesta fisiológica del animal ante el protocolo, como por ejemplo la comodidad de la rata en el protocolo, sin embargo prueba que la señal oscilatoria de baja frecuencia codifica variables de comportamiento durante la actividad de navegación espacial en corteza entorrinal, y que su vinculación con otras componentes de la señal depende del estado cinemático. El análisis presentado en el Capítulo 3 soporta el hecho de que las características de este ritmo pueden tener un origen neuronal subyacente en la misma corteza entorrinal ya que existen neuronas que se sincronizan o codifican información relacionada al ritmo *delta*.





## 5

# Ritmos durante episodios epilépticos

Detectar una crisis epiléptica es un desafío cuya solución atraviesa múltiples disciplinas de la ciencia. La detección se basa en el análisis de registros electrofisiológicos, tanto con técnicas no invasivas (como electroencefalograma) como con técnicas invasivas (como electrodos profundos).

El problema de detección consiste principalmente en la definición de biomarcadores adecuados que permitan clasificar las series temporales que representan la actividad eléctrica en el cerebro. En este contexto se denomina período *inter-ictal* a los segmentos temporales fuera de la crisis, *ictal* a la crisis y *pre-ictal* a los segundos anteriores a la crisis. Durante mucho tiempo el estudio de detección se centró en buscar los mejores biomarcadores que permitan lograr una mejor clasificación entre los períodos inter-ictal e ictal. Con el desarrollo y explosión del *deep learning* [105], muchas técnicas se han enfocado en lograr el desarrollo del algoritmo óptimo para la detección sin necesidad de definir cuales son los biomarcadores de interés. Es así como muchos trabajos actuales se centran en la representación espectro-temporal [106] de las señales para entrenar algoritmos de manera supervisada como *Support Vector Machine*, *Random Forest*, *Redes neuronales profundas* con el objetivo de detectar una crisis en el momento que comienza [107–109]. Sin embargo, al ser la mayoría de estos algoritmos supervisados [108] requieren gran cantidad de datos ya caracterizados para lograr el aprendizaje de la clasificación, con el menor sobreajuste posible. Además muchos de estos métodos no permiten tener interpretabilidad de los resultados, o de cuáles son las características relevantes que detecta el algoritmo. Uno de los objetivos del presente capítulo es hacer una clasificación no supervisada que no requiera alta cantidad de datos, y definir un posible biomarcador basado en el análisis de covarianza de señales en el espacio tiempo-frecuencia que permite, además, interpretabilidad del algoritmo.

En ocasiones, durante un episodio epiléptico, los pacientes sufren alteración del es-

tado consciente [110, 111]. Observaciones preliminares realizadas por médicos expertos (nuestras colaboradoras Dra. Silvia Kochen y Dra. Nuria Cámpora) sugieren que el nivel de alteración de la conciencia se encuentra relacionado con cuáles son las regiones específicas involucradas en la crisis [112], con la cantidad de áreas o con la sucesión de las mismas involucradas en la propagación. Además otros estudios sugieren que la alteración de la conciencia estaría relacionada con los fenómenos que ocurren en las etapas iniciales de la crisis [113]. El análisis de detección usando el método de covarianzas propuesto permitirá, en una etapa posterior, cuantificar variables como cantidad de electrodos o áreas involucrados, y su correlación con la alteración de la conciencia.

La alteración de la conciencia puede medirse utilizando diversos criterios, y a partir de tales criterios se elaboran escalas que indican el nivel de alteración de conciencia producido. La mayoría de las escalas para medir pérdida de conciencia se basan en el análisis de registros de video-EEG sincronizados que se adquieren con el paciente hospitalizado. La sincronización en el almacenamiento entre la actividad eléctrica registrada y las filmaciones es fundamental para poder correlacionar el comportamiento del sujeto con la actividad cerebral. Para medir el nivel de tal alteración de la conciencia (*AOC*) el personal clínico presente durante la crisis realiza una serie de pruebas con el paciente. La valoración del estado consciente se realiza *a posteriori* utilizando la filmación correspondiente. En este caso, la valoración se da siguiendo los ocho criterios de alteración de la conciencia (*Consciousness Seizure Scale: CSS*) durante crisis epiléptica [33]:

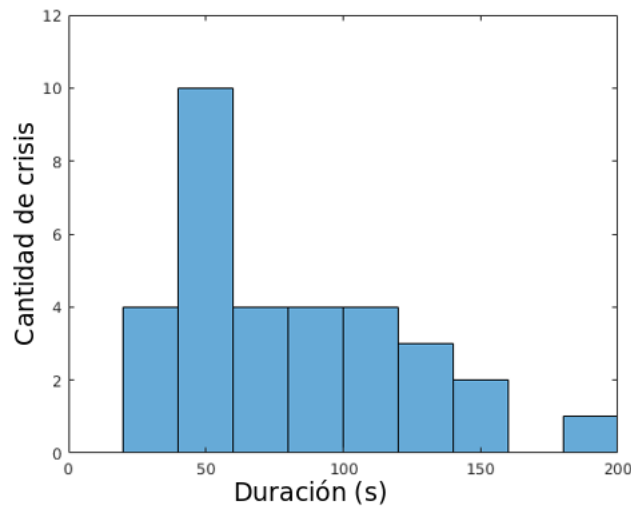
- Respuesta (0 or 1),
- Atención visual (0 or 1);
- Interacción con el examinador (0 or 1);
- Conciencia de la crisis(0 or 1);
- Conducta inapropiada (0 or 1);
- Amnesia postictal (0 or 1);
- Amnesia del evento (0 or 1);
- Apreciación global de la conciencia (0 or 1);

La valoración final se obtiene sumando las apreciaciones de los ocho criterios resultando en una escala numérica del 0 – 9 donde se considera:

- 0-1 : sin alteración de la conciencia.
- 2-5 : alteración media de la conciencia.

- 6-9 : alteración profunda de la conciencia.

Se dispone de 32 crisis epilépticas de duración variable correspondientes a 5 pacientes diferentes de distinto sexo y edades. Estas 32 crisis tienen diferente cantidad de series temporales asociadas (dependiendo de la cantidad de electrodos implantados en el paciente), pero resultan en un total de 1599 segmentos de series temporales. La Figura 5.1 muestra el histograma con las duraciones eléctricas de las crisis. Además, se dispone de 29 valoraciones de alteración de la conciencia. El histograma de la Figura 5.2 presenta los valores de alteración de conciencia de los datos que se utilizan en este trabajo. El valor  $-1$  corresponde a crisis en las cuales se desconoce la valoración de alteración de la conciencia. Es importante mencionar que la duración de la crisis no parece ser un factor que modifique o correlacione con el nivel de alteración de la conciencia (ver Figura 5.3).

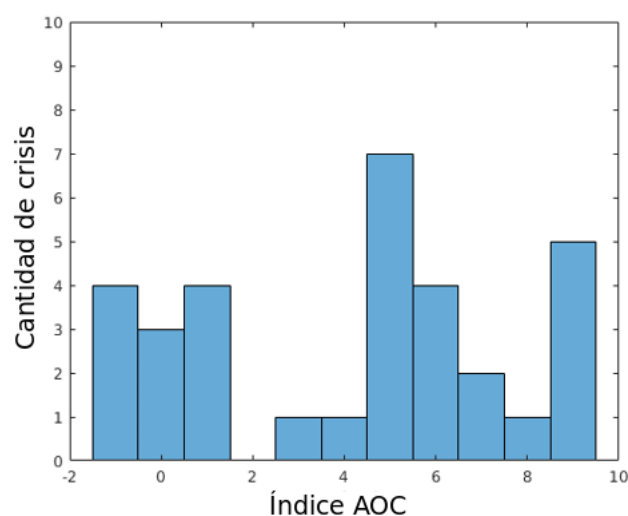


**Figura 5.1: Caracterización de las crisis: duración.** Histograma de duración de las 32 crisis epilépticas registradas de las que se dispone para el análisis.

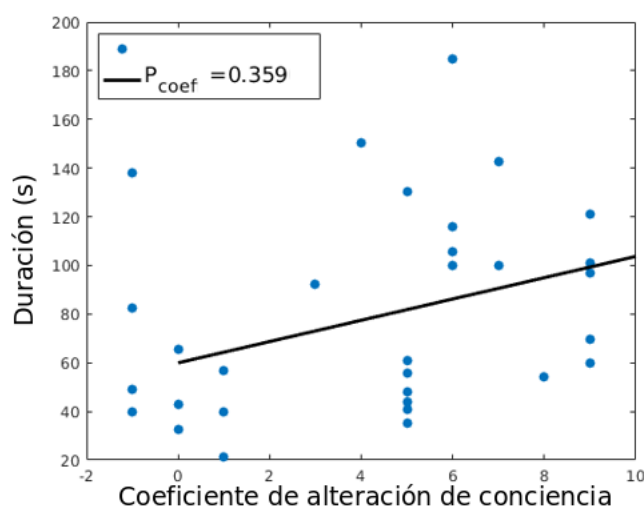
## 5.1. Materiales y métodos

### 5.1.1. Análisis espectral: representaciones

Dada una señal  $V(t)$ , que representa el voltaje en el tiempo medido por un electrodo implantado, el espectrograma representa la evolución del espectro de frecuencias en el tiempo (Representación1). Un espectrograma consiste en la realización de múltiples transformadas de Fourier (FFT) utilizando los datos en una ventana de tamaño  $\Delta$  deslizante en el tiempo con superposición  $\Theta$ . El resultado se reporta en una matriz donde el eje  $x$  representa el tiempo y el eje  $y$  las frecuencias. La potencia en cada

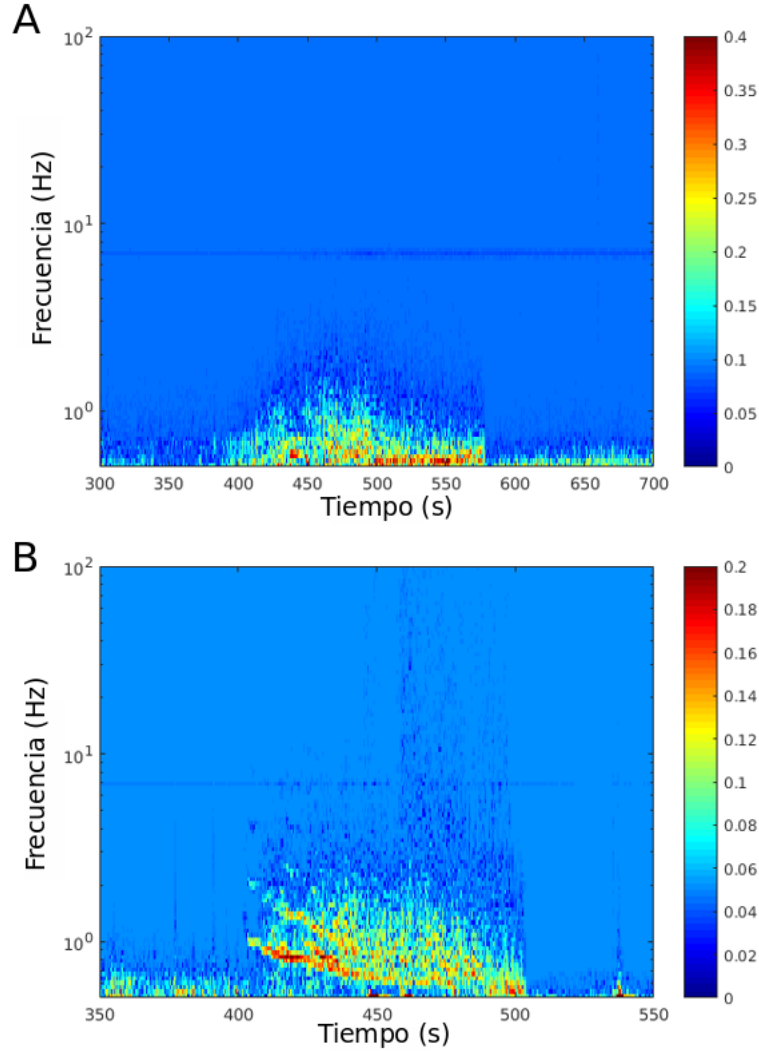


**Figura 5.2: Caracterización de las crisis: AOC.** Histograma de índices de alteración de la conciencia de las crisis analizadas. El valor  $-1$  corresponde a las crisis cuyo índice de alteración de la conciencia se desconoce.



**Figura 5.3: Correlación duración vs AOC.** Duración de las crisis epilépticas vs valoración de la conciencia obtenida con los ocho criterios. Aquellas puntos que corresponden a crisis cuyos valores de alteración de la conciencia se desconocen no son incluidos en la regresión (valores en  $-1$ ).

banda de frecuencia (valor absoluto de la FFT) se representa con código de colores (típicamente en escala logarítmica), como muestran los ejemplos de la Figura 5.4.



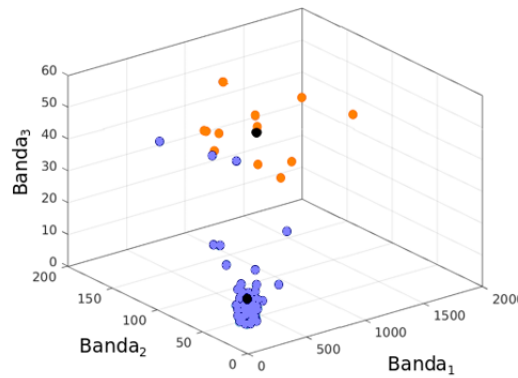
**Figura 5.4: Ejemplos de espectrogramas.** Transformada de Fourier en el tiempo utilizando una ventana deslizante de duración  $\Delta = 1\text{s}$ , con superposición de  $\Theta = 0,5\text{s}$ , y  $2^{10}$  puntos para computar la FFT. El histograma de potencias se representa con código de colores en escala logarítmica. En cada panel se representa un segmento con período pre-ictal, ictal y post-ictal. (A) Paciente 1 con período ictal en  $[400, 580)\text{s}$ . (B) Paciente 2 con período ictal en  $[400, 500)\text{s}$ .

Los espectrogramas calculados en este Capítulo se computan utilizando una ventana temporal de  $\Delta = 1\text{s}$  con superposición  $\Theta = 0\text{s}$ . La superposición es elegida nula para eliminar las correlaciones en el tiempo inducidas por repetición de los datos. La potencia total en la banda  $[b_1, b_2]$  se calcula a partir de la integral (o suma) de las potencias del espectrograma en el intervalo de frecuencias  $[b_1, b_2]$ . De esta manera se obtiene una representación  $\vec{F}(t)$  dada por una matriz de tamaño  $N \times T$ , donde  $N$  es la cantidad de bandas y  $T$  es el tiempo en segundos de duración de la señal:  $\vec{F}(t): [\vec{f}_1, \dots, \vec{f}_N]^T$ .

Otra representación gráfica (Representación2) de la potencia en bandas consiste en graficar el espacio  $N$  dimensional de valores de potencia en las  $N$  bandas. En este

espacio cada segundo temporal es un vector de  $N$  dimensiones que se representa como un punto de medición. De esta manera se preserva la información de potencia pero se pierde el orden temporal. La Figura 5.5 muestra un ejemplo de la representación en este espacio de configuración de potencia en 3 bandas. Particularmente se representan en distintos colores datos correspondientes al período ictal (naranja) y datos correspondientes al período inter-ictal (azul).

La inspección visual en esta representación muestra que los datos se encuentran separados en dos conjuntos (con centroides marcados en negro en la Figura 5.5), y la distinción entre ambos se da por pertenencia al conjunto de datos ictales o inter-ictales. Esto sugiere que un algoritmo de clasificación binaria entre períodos ictales o inter-ictales puede basarse en el estudio de la representación<sup>2</sup>.



**Figura 5.5: Ejemplo representación en espacio de potencias.** Se presentan en el espacio de tres bandas la potencia total en segmentos temporales de un segundo. En color azul se muestran datos que corresponden al período *inter-ictal* y en naranja los correspondientes al período *ictal*. Con estos datos se realizó una separación utilizando el método de *k-means* con 2 centros. Los centros de los grupos se muestran en negro.

Sin embargo, como se observa en la Figura 5.5, algunas de las muestras del período inter-ictal (puntos azules), se encuentran cercanas al conjunto de datos ictales (puntos naranjas). Por ende, la clasificación en período ictal o inter-ictal no puede basarse únicamente en la distancia al centroide. El análisis de covarianza permitirá medir distancias escaleadas con la desviación estándar esperada para cada centroide.

Si la cantidad de bandas de frecuencia (es decir  $N$ ) es suficientemente menor a la cantidad de muestras que se tienen de este espacio (es decir  $T$ ), es posible estimar la media y la covarianza de la distribución de probabilidad  $P_N(F_1, \dots, F_N)$ , donde  $f_1(t), \dots, f_N(t)$  para  $t \in T$  son muestras de esta distribución de probabilidad, y  $F_i$  representa la potencia en la banda de frecuencia  $i$ .

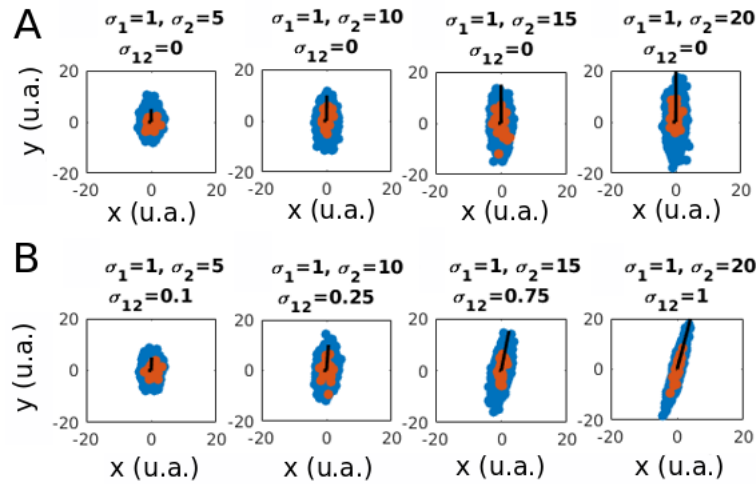
Entonces, los datos  $V(t)$  se segmentan en ventanas consecutivas de 1s de duración sin superposición, donde cada ventana contiene  $M$  puntos. Se definen los vectores  $\vec{Z}(t)$ , con componentes  $z_i(t)$  con  $1 \leq i \leq N$  y  $N$  el número total de bandas de frecuencia, que representan la cantidad de potencia en la banda de frecuencia  $F_i$  en la señal  $V(t)$

dentro de la ventana que comienza al tiempo  $t$ . Si los vectores  $\vec{Z}(t)$  obtenidos a distintos tiempos  $t$  se consideran muestras de una distribución  $P_N(\vec{Z})$  se los puede analizar en el marco de la descomposición de componentes principales.

Supóngase que en el registro  $V(t)$  hay segmentos temporales ictales y segmentos inter-ictales, y que estos períodos son representados por dos distribuciones diferentes,  $P_{ictal}(\vec{Z})$  y  $P_{inter-ictal}(\vec{Z})$ , respectivamente. A continuación se muestra cómo utilizar el método de covarianzas para detectar transiciones entre las dos distribuciones de probabilidad.

### 5.1.2. Análisis de covarianza

Sea ahora un señal genérica  $\vec{X}(t) = [X_1(t), X_2(t)] \in R^{2 \times T}$  con  $t \in T$  en el tiempo muestreada de una distribución de probabilidad  $P_2(X_1, X_2)$  con media  $\mu_1 = \mu_2 = 0$  y matriz de covarianza  $\Sigma_2$ . Las propiedades de la matriz de covarianza determinan la simetría de la distribución de probabilidad. Los ejemplos presentados en la Figura 5.6 muestran las deformaciones en el espacio de representación de las variables  $X_1$  e  $X_2$  cuando son generadas de sendas gaussianas bidimensionales con distinta matriz de covarianza.



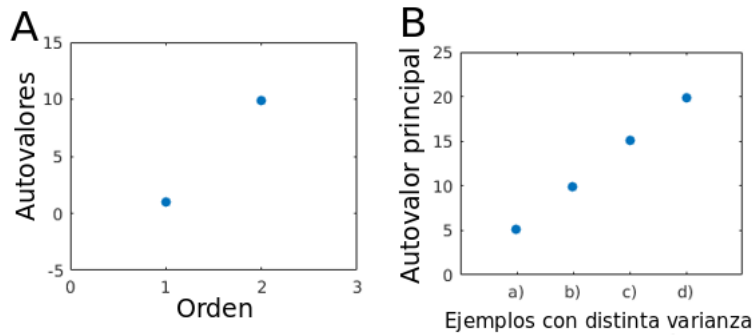
**Figura 5.6: Ejemplos de datos generados por distribuciones gaussianas.** Señales bidimensionales generadas a partir de una distribución gaussiana bivariada con medias  $\mu_1 = \mu_2 = 0$  y matriz de covarianza  $\Sigma$ , donde  $\sigma_1$  y  $\sigma_2$  representan los valores en la diagonal, y  $\sigma_{12}$  representa la covarianza de las señales. En azul se muestran 100 puntos generados de tal distribución y en naranja una cantidad de 30 puntos. (A)  $\sigma_{12} = 0$ . (B)  $\sigma_{12}$  variable. Se muestran en los mismos gráficos los valores de  $\sigma_{12}$  utilizados.

A partir de los datos  $\vec{X}(t)$  la estimación de máxima verosimilitud de la matriz de covarianza  $C$  se obtiene como  $C = \langle (\vec{X} - \vec{X}_{mean})(\vec{X} - \vec{X}_{mean})^T \rangle$ , donde  $\vec{X}_{mean} = \langle \vec{X} \rangle$  y  $\langle \cdot \rangle$  representa el promedio en las  $T$  muestras.

La matriz  $C$  es simétrica, por lo tanto diagonalizable. La diagonalización de la matriz  $C$  consiste en un cambio de base que transforma un conjunto de variables (en este caso 2) estadísticamente correlacionadas en un conjunto de variables descorrelacionadas. El proceso de diagonalización permite obtener una matriz  $B_{A,\epsilon} = [\vec{v}_1, \vec{v}_2]$  data por los autovectores de  $C$  y una matriz diagonal  $D$  con elementos  $\lambda_1, \lambda_2$  no negativos en la diagonal. La transformación de una base a la otra está dada por  $C_\epsilon = B_{\epsilon,A}^T D B_{A,\epsilon}$ , donde el subíndice  $\epsilon$  se refiere a la base canónica, y  $A$  a la base de autovectores.

El proceso de diagonalización se realiza de manera tal que el autovalor más grande captura la mayor variabilidad de la señal  $\vec{X}(t)$ . El análisis por componentes principales (PCA) consiste en ordenar los autovalores obtenidos en orden decreciente, y sus correspondientes autovectores.

Cuando la distribución de probabilidad subyacente tiene simetría esférica los autovalores resultan degenerados (es decir  $\lambda_i = \lambda_j \forall i, j$ ). La Figura 5.7A muestra un ejemplo del espectro de autovalores obtenido a partir de la diagonalización de la matriz de covarianza obtenida de los datos de una de las subfiguras de la Figura 5.6A, y la Figura 5.7B muestra la evolución del autovalor más grande cuando se realiza el mismo procedimiento en los todos los subpaneles de la Figura 5.6A para todos los valores de varianzas.



**Figura 5.7: Ejemplo análisis de covarianza.** (A) Ejemplo del espectro de autovalores bidimensional que se obtiene de datos generados con una función gaussiana bidimensional con medias  $\mu_1 = \mu_2 = 0$ , y matriz de covarianza  $\Sigma_2 = \begin{bmatrix} 1 & 0,5 \\ 0,5 & 10 \end{bmatrix}$ . (B) Autovalor máximo calculado a partir de datos generados con gaussiana bivariadas con matrices de covarianza :  $\Sigma_1 = \begin{bmatrix} 1 & 0,1 \\ 0,1 & 5 \end{bmatrix}$ ,  $\Sigma_2 = \begin{bmatrix} 1 & 0,5 \\ 0,5 & 10 \end{bmatrix}$ ,  $\Sigma_3 = \begin{bmatrix} 1 & 0,75 \\ 0,75 & 15 \end{bmatrix}$ ,  $\Sigma_4 = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 1 & 20 \end{bmatrix}$ .

Las distribuciones de probabilidad subyacentes a la generación de datos de las Figuras 5.6A (o 5.6B) son asimétricas, y tal asimetría puede detectarse con la existencia de un autovalor significativamente distinto a los demás. La intensidad de la asimetría se evidencia con el valor del autovalor. La dirección principal se corresponde con el autovector  $\vec{v}_i$  asociado al autovalor más grande  $\lambda_i$ .

La señal  $\vec{X}(t)$  original puede proyectarse sobre la dimensión que contiene máxima variabilidad mediante la operación  $Y(t) = \vec{v}_i^T \vec{X}(t)$ .



### 5.1.3. Normalización o *whitening*

Sea ahora  $\vec{X}(t) \in R^{N \times T}$  con  $t \in T$  una señal en el tiempo muestreada de una distribución de probabilidad  $P_N(X_1, \dots, X_N)$ . Se dice que  $P_N$  es una distribución elíptica si puede transformarse en una distribución esféricamente simétrica utilizando la transformación:

$$\vec{X}' = D^{1/2} B^T \vec{X}. \quad (5.1)$$

donde  $D \in R^{N \times N}$  es una matriz diagonal con elementos  $\lambda_1, \dots, \lambda_N$  en la diagonal obtenida de la diagonalización de la matriz de covarianza  $C$  con elementos de matriz  $C_{ij} = \langle x_i(t)x_j(t) \rangle_t - \langle x_i(t) \rangle_t \langle x_j(t) \rangle_t$ ,  $B = [\vec{v}_1^T, \dots, \vec{v}_N^T]$  es la matriz de autovectores, y el subíndice  $t$  indica promedio en el tiempo [43].

La transformación dada por la Ec. 5.1 comprime las direcciones con mayor variabilidad y estira las direcciones con menor variabilidad de manera que la matriz de covarianza *a priori* ( $C'$ ) asociada a la totalidad de los datos  $\vec{X}'(t)$  es la identidad. Es decir,  $C' = \langle (\vec{X}' - \vec{X}'_{mean})(\vec{X}' - \vec{X}'_{mean})^T \rangle = I$ . A este procedimiento se lo denomina normalización o *whitening* ya que proyecta los datos a un espacio donde la distribución de probabilidad subyacente es gaussiana multivariada sin correlaciones. Sin embargo, si se utiliza una cantidad menor de datos a la totalidad de los involucrados, la matriz de correlaciones ( $c'$ ) resulta diferente a la identidad, es decir  $c' \neq C'$ . En este contexto se utilizarán letras mayúsculas para los casos en los que se utilizan todos los datos ( $C'$ ) y minúsculas cuando se utilizan sólo algunos datos ( $c'$ ) para computar la matriz de covarianza. El objetivo del análisis presentado con el método de covarianza será utilizarlo para detectar períodos transitorios en los que la matriz de covarianza obtenida con un subconjunto de los datos es significativamente diferente de la identidad, y que tales diferencias no se deban únicamente al uso de pocos datos.

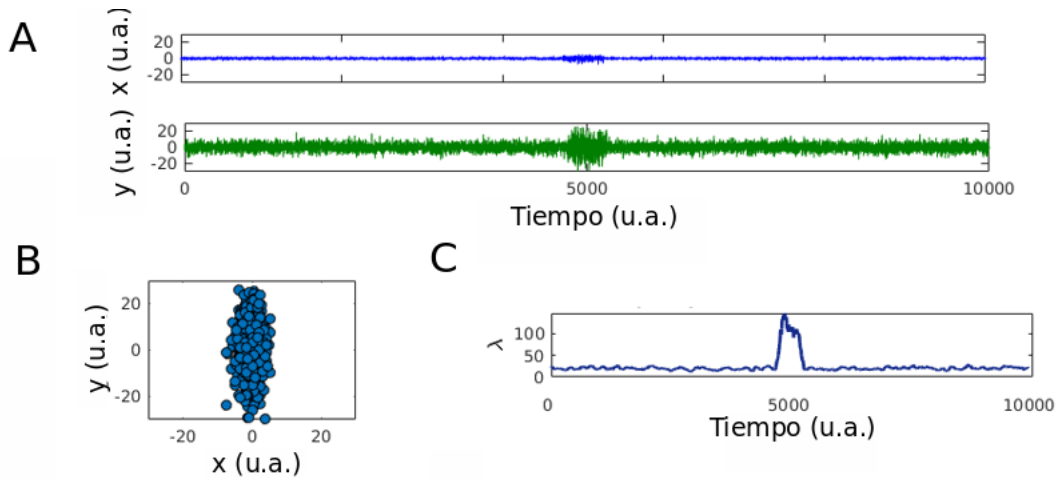
Sean  $\vec{v}_1', \dots, \vec{v}_N'$  las direcciones asociadas a los autovalores  $\lambda_1', \dots, \lambda_N'$  obtenidas a partir de la diagonalización de la matriz de covarianza  $c'$  calculada con una parte de los datos. Las direcciones  $\vec{v}_1', \dots, \vec{v}_M'$ , con  $M \ll N$ , que capturan la mayor variabilidad de la señal original, es decir las direcciones relevantes, son aquellas cuyos autovalores son no degenerados y distintos de 1. Estas direcciones se proyectan hacia el espacio original de la señal  $\vec{X}(t)$  mediante la Ec. 5.2.

$$\vec{v}_i^* = B D^{1/2} \vec{v}_i'. \quad (5.2)$$

Si  $M = 1$  es posible pensar en una señal  $Y(t) \in 1 \times T$  que contiene la mayor proporción de variabilidad, que se obtiene mediante la proyección:  $Y(t) = \vec{v}_1^* \cdot \vec{X}(t)$  [43].

### 5.1.4. Análisis de covarianza en el tiempo

Considerar una señal temporal  $\vec{S}_1(t)$  de duración  $\tau_1$  generada por una distribución gaussiana multivariada  $G_1(\vec{s}|\vec{\mu}_1, \Sigma_1)$  de media  $\vec{\mu}_1 = \vec{0}$  y matriz de covarianza  $\Sigma_1$ , y  $\vec{S}_2(t)$  un segmento de duración  $\tau_2$  generado por una distribución gaussiana  $G_2(\vec{s}|\vec{\mu}_2, \Sigma_2)$  de media  $\vec{\mu}_2 = \vec{0}$  y matriz de covarianza  $\Sigma_2$ . Ahora se corta a la señal  $\vec{S}_1(t)$  en un punto  $t^*$  y se la concatena con el segmento  $\vec{S}_2(t)$ , formando una nueva señal  $\vec{S} = \vec{S}_1 \cup \vec{S}_2$  de duración  $\tau = \tau_1 + \tau_2$ , como se muestra en la Figura 5.8A en un ejemplo bidimensional. El objetivo de esta sección es utilizar el análisis de covarianza como herramienta para detectar el tiempo  $t^*$  a partir de los datos muestreados de distribuciones  $G_1$  y  $G_2$ .



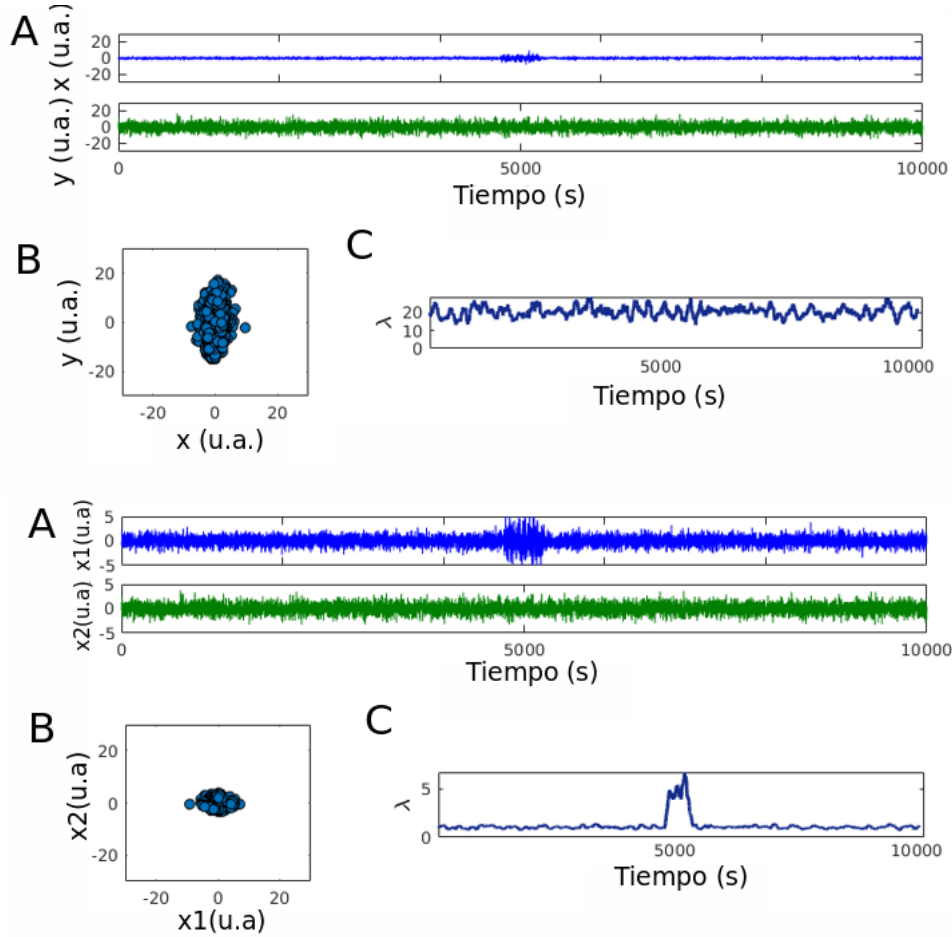
**Figura 5.8: Ejemplo señal generada por una distribución gaussiana bivariada.** (A) Componentes de la señal  $\vec{S} = [X, Y]$  en el tiempo. (B) Espacio de configuraciones  $\mathbf{X}$  vs  $\mathbf{Y}$ . (C) Evolución del principal autovalor resultante del análisis de covarianza en el tiempo calculado con una ventana deslizante con 30 puntos, y superposición de 29 puntos.

Sea  $\vec{s}_\delta(t)$  un segmento de la señal  $\vec{S}(t)$  de duración  $\delta$ , con  $\delta \ll \tau$  y  $\delta < \tau_2$ . La matriz de covarianza asociada es  $c(s_\delta) = \langle (s_\delta - \langle s_\delta \rangle)(s_\delta - \langle s_\delta \rangle)^T \rangle$ . A priori, si  $\vec{s}_\delta(t) \subset \vec{S}_1(t)$ , entonces  $c = \Sigma_1$ , y si  $\vec{s}_\delta(t) \subset \vec{S}_2(t)$ , entonces  $c = \Sigma_2$ .

El procedimiento descrito puede utilizarse con una ventana deslizante de manera de obtener una matriz de covarianza para cada segundo  $c(t)$ , donde  $t$  es el tiempo en el que comienza el segmento deslizante. Como se muestra en la Sec.5.1.2, el análisis espectral de autovalores permite detectar la existencia de diferentes direcciones de asimetría de la distribución de probabilidad de los datos. Como las señales  $\vec{S}_1(t)$  y  $\vec{S}_2(t)$  son generadas con matrices de covarianza diferentes, el análisis de autovalores permite detectar a partir de qué tiempo  $t = t^*$  la distribución de probabilidad subyacente se modifica (como muestra la Figura 5.8C).

Sin embargo, si las variaciones que se desean detectar se encuentran en una dimensión de varianza pequeña, y son del orden de magnitud de la varianza en alguna de las otras dimensiones, el procedimiento mediante el análisis de covarianza no funciona

porque la señal relevante queda enmascarada dentro del ruido de una dimensión irrelevante (ver Figura 5.9C panel superior). Esto se debe a que el análisis por autovectores no determina variaciones en una dirección particular, sino en aquellas que resultan de ordenar las dimensiones en orden de varianza decreciente. En este caso, es necesario realizar una renormalización de los datos como la propuesta en 5.1.3, obteniéndose señales temporales como las que se muestran en la Figura 5.9C panel superior.



**Figura 5.9: Renormalización de los datos (*whitening*).** Panel superior: ejemplo de una señal bidimensional generada por una distribución gaussiana. Panel inferior: mismas señales realizando el cambio de base (o normalización). (A) Evolución en el tiempo de las componentes  $[X, Y]$  de señales generadas de dos distribuciones gaussianas  $G_1$  y  $G_2$ . (B) Representación en el espacio de evolución de las señales  $[X, Y]$ . (C) Análisis de covarianza en el tiempo. Se presenta el autovalor más grande tiempo a tiempo calculado con una ventana deslizando con 30 puntos, y superposición de 29 puntos.

Si  $\tau_2 \ll \tau_1$ , la matriz estimada de covarianza de la totalidad de los datos  $C = \langle (\vec{S} - \langle \vec{S} \rangle)(\vec{S} - \langle \vec{S} \rangle)^T \rangle$  se encuentra principalmente dominada por las características de la señal  $\vec{S}_1(t)$ . En este contexto, cualquier asimetría que pueda detectarse con el análisis de componentes principales está principalmente dominada por la señal de mayor longitud temporal  $\tau_1$ . El objetivo del *whitening* propuesto es eliminar cualquier asimetría intrínseca de la señal  $\vec{S}_1(t)$  del conjunto  $\vec{S}(t)$ . Mediante este proceso se transforman los

datos a la base donde la señal  $\vec{S}_1(t)$  tiene una matriz de covarianza diagonal unitaria. Dado que se desconoce cuáles son los intervalos temporales generados con cada una de las distribuciones gaussianas, se computa la matriz de covarianza de la señal completa  $\vec{S}(t)$ ,  $C$  y matriz de autovectores  $B$ . De manera se obtiene una señal  $\vec{S}' = C^{1/2} B^T \vec{S}$  en el espacio esféricamente simétrico (o normalizado) como se muestra en la Sec. 5.1.3.

A continuación, sea  $\vec{s}'_\delta(t)$  un segmento de la señal  $\vec{S}'(t)$  de duración  $\delta$ , con  $\delta \ll \tau$  y  $\delta < \tau_2$ . La matriz de covarianza asociada es  $c'_\delta(s'_\delta) = \langle (s'_\delta - \langle s'_\delta \rangle)(s'_\delta - \langle s'_\delta \rangle)^T \rangle$ . Donde las minúsculas indican que se toman sólo algunos datos (cantidad  $\delta$ ) y los índice primados indican que se trabaja en el espacio normalizado. Si  $\vec{s}'_\delta(t) \subset \vec{S}'_1(t)$ , entonces  $c'_\delta = I$ , y si  $\vec{s}' \subset \vec{S}'_2$ , entonces  $c'_\delta \neq I$ . Estrictamente, por haber usado una cantidad de datos  $\delta \ll \tau$ , incluso en el caso  $\vec{s}'_\delta \subset \vec{S}'_1$ , la matriz  $c'_\delta \neq I$ . Entonces, en los dos casos se obtendrán matrices diferentes a la identidad, y el problema consiste en detectar cuáles diferencias se deben al sampleo finito de la señal y cuáles a la existencia de una dirección relevante distinta de la de normalización.

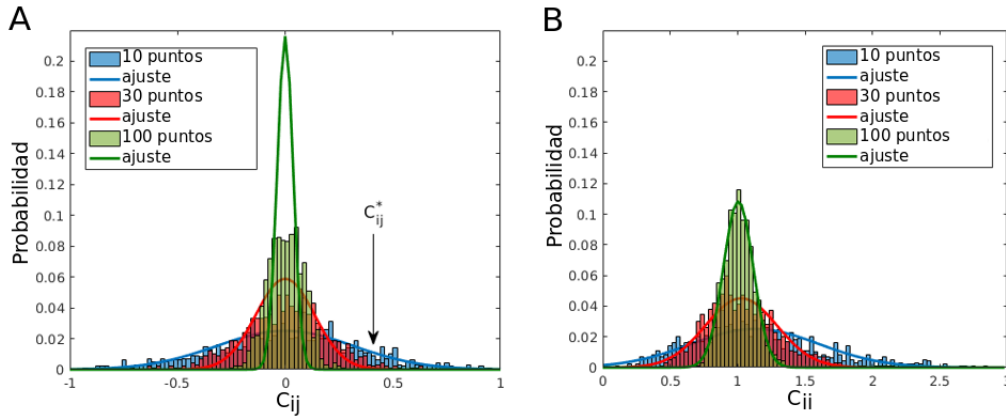
El procedimiento para el análisis en el tiempo consiste en utilizar una ventana deslizante de longitud  $\delta$  (se pueden utilizar distintos valores de  $\delta$ ) para calcular los autovalores de la matriz  $c'_\delta(t)$  a lo largo de toda la señal  $\vec{S}'(t)$ , como muestra la Figura 5.9C panel inferior. A partir de la detección de aquellos  $\lambda_i(t)$  tales que  $\lambda_i(t) > \lambda_j(t)$  es significativo  $\forall i$  en cada  $t$  es posible detectar el tiempo  $t^*$  en el que se incluye a la señal  $\vec{S}_2(t)$  en la señal  $\vec{S}_1(t)$ . Para decidir cuando existe un autovalor que es significativamente diferente de los demás, y que esa diferencia no se debe exclusivamente al tamaño de la ventana seleccionada, se realiza el análisis de significancia presentado en la Sec. 5.1.5.

### 5.1.5. Significancia estadística

#### Significancia del autovalor principal

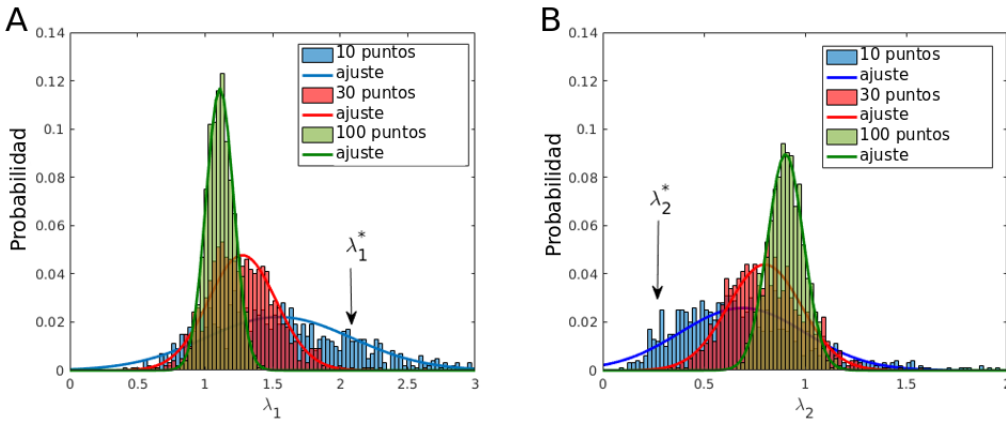
Estimar una matriz de covarianza a partir de pocas muestras puede resultar en una sobreestimación de las correlaciones entre las variables, y en subestimaciones o sobreestimaciones de la varianza de cada variable. Para distribuciones gaussianas, la varianza del estimador  $c_{ii} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i^2 - (\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i)^2$  es  $\frac{2\sigma^4(N-1)}{N^2} \approx \frac{2\sigma^2}{N}$ . Por lo tanto, el error cuadrático medio en la estimación de la varianza decrece como  $1/\sqrt{N}$ , siendo  $N$  el número total de datos. Como muestra la Figura 5.10, la distribución de probabilidad de correlaciones obtenidas a partir de un proceso gaussiano de variables independientes es una gaussiana de media cero que cambia su varianza al cambiar la cantidad de datos involucrados en cálculo de la correlación.

El análisis por componentes principales (PCA) consiste en diagonalizar la matriz de covarianza. Si la matriz de covarianza se encuentra mal estimada *a priori* esto se traduce en una sobre-estimación un conjunto de componentes y una subestimación de otro



**Figura 5.10: Distribuciones de probabilidad de correlaciones.** Ejemplos de distribuciones de probabilidad de varianzas (B) y correlaciones (A) obtenidas a partir de datos un conjunto de  $N$  datos  $\vec{x}$  generados por una distribución gaussiana  $G_2(\vec{x}|\mu, \Sigma)$ , con  $\mu = [0, 0]$  y  $\Sigma = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$ . Se presentan las distribuciones generadas por  $N = 10$ ,  $N = 30$  y  $N = 100$  datos.

conjunto (ver Figura 5.11 en un ejemplo de dos dimensiones, donde una componente se sobreestima y la otra se subestima).



**Figura 5.11: Ejemplo de autovalores.** Ejemplos de distribuciones de probabilidad de autovalores obtenidos a partir de datos un conjunto de  $N$  datos  $\vec{x}$  generados por una distribución gaussiana  $G_2(\vec{x}|\mu, \Sigma)$ , con  $\mu = [0, 0]$  y  $\Sigma = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$ . Se presentan las distribuciones generadas por  $N = 10$ ,  $N = 30$  y  $N = 100$  datos. (A) Autovalor principal (máximo). (B) Segundo autovalor.

Dado un conjunto de autovalores  $\lambda_1, \dots, \lambda_N$  obtenidos a partir de la diagonalización de un subconjunto de datos de tamaño  $\tau$  de una señal  $\vec{X}(t)$ , se desea saber si la componente principal con autovalor  $\lambda^*$  es realmente una componente principal o es resultado de una sobreestimación debido al tamaño  $\tau$  del segmento analizado. El análisis de significancia consiste en estimar la probabilidad de que el máximo autovalor sea tan o más grande que el obtenido de los datos, bajo la hipótesis nula de que el conjunto de datos de una muestra reducida de la misma distribución de probabilidad que genera la totalidad de los datos. La estimación se realiza seleccionando al azar  $\tau$  datos de la señal total  $\vec{X}(t)$ , calculando la matriz de covarianza y su máximo autovalor. Repitiendo este

análisis 1000 veces, se obtiene la distribución del máximo autovalor de la señal real proviene de una distribución de probabilidad con varianza mayor que 1 si supera el 99.9% de los autovalores obtenidos con los subrogados.

### 5.1.6. Superposición, precisión y exhaustividad en un clasificador.

Para validar algoritmos de clasificación es necesario medir su desempeño comparando los resultados con la realidad, o en este caso, la información que proporcionan las médicas expertas (Dra. Kochen y Dra. Cámpora). Supóngase que se tiene una señal en el tiempo  $t$ , donde cada  $t$  tiene categorías binarias,  $\omega_{real}(t)$  correspondiente clasificación del medido (ictal/inter-ictal) y el resultado de un algoritmo de clasificación  $\omega_{bin}(t)$ . Se computa el valor medio de superposición (similar a la *accuracy* del clasificador) como:

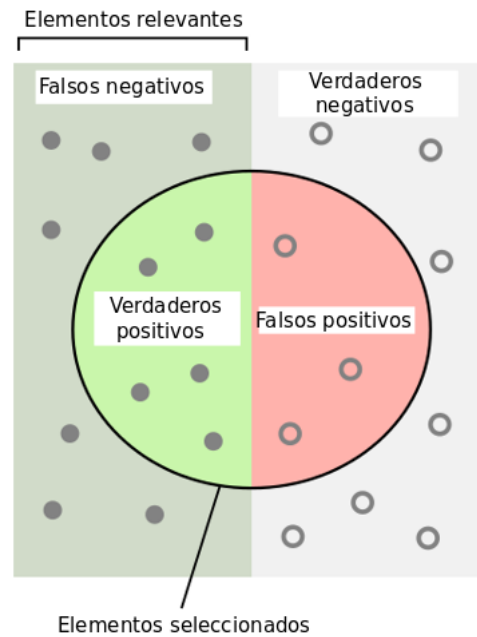
$$\Theta = 1 - \frac{1}{T_{total}} \sum_{electrodos} \sum_t |\omega_{real}(t) - \omega_{bin}(t)| \quad (5.3)$$

donde  $T_{total}$  se refiere a la totalidad de los puntos clasificados en todos los electrodos. Esta medida se utiliza para medir el desempeño del clasificador en general, sin tener en cuenta cuál de las dos posibilidades tiene mayor estadística. Sin embargo, en casos no balanceados, es necesario utilizar otras medidas [114].

Para evaluar la capacidad de clasificación entre los estados de crisis y no crisis se pueden medir la precisión: verdaderos positivos/(verdaderos positivos+falsos positivos); y la exhaustividad: verdaderos positivos/(verdaderos positivos+falsos negativos). Es decir, la precisión mide cuánto de lo que se detecta es realmente correcto, y la exhaustividad mide cuánto de todo lo que debería detectarse se detecta correctamente. La Figura 5.12 muestra gráficamente cuáles son los verdaderos positivos, falsos positivos y falsos negativos. En este caso, se utilizan los casos de crisis detectadas dentro de un segmento temporal de una dada duración como verdaderos positivos, los segmentos detectados como crisis correspondientes al período inter-ictal como falsos positivos y los períodos de crisis no detectados como falsos negativos.

### 5.1.7. Validación cruzada.

Cuando se dispone de poca cantidad de datos, una forma de validar un algoritmo de clasificación consiste en realizar múltiples entrenamientos del modelo con diferentes conjuntos de datos, y medir su desempeño en otro conjunto de datos no vistos anteriormente por el modelo. En la validación cruzada el conjunto de datos de entrenamiento (*training set*) y el de prueba (*testing set*) se intercambian repetidas veces. El objetivo de este análisis es garantizar que los resultados obtenidos son independientes



**Figura 5.12: Precisión y exhaustividad.** Figura adaptada de *Wikipedia* para representar las medidas de precisión y exhaustividad del total de muestras. Se muestra un ejemplo donde hay puntos pertenecan a cada una de las posibles clasificaciones: verdaderos positivos (VP), falsos positivos (FP), falsos negativos (FN) y verdaderos negativos (VN). A su vez se marca el conjunto relevante y los elementos seleccionados por el algoritmo.

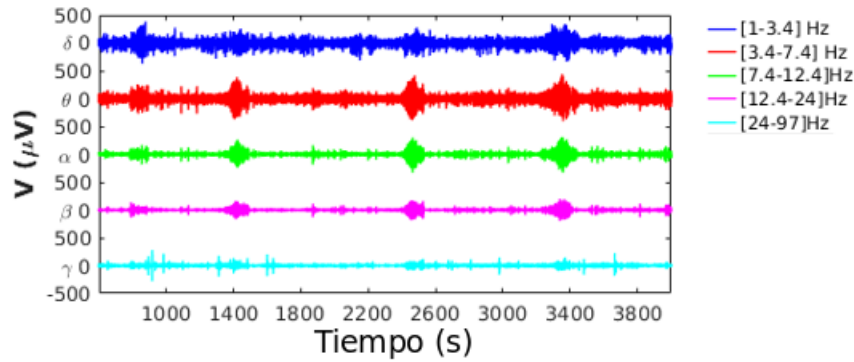
del conjunto de datos con los que se entrena el algoritmo (o modelo). Dentro de este contexto, para asegurar que el algoritmo de covarianzas propuesto puede generalizarse a diferentes pacientes es necesario realizar una validación.

Particularmente, el modelo propuesto pasa por dos fases de entrenamiento, la primera consiste en la normalización y la segunda en la selección de umbral para la detección de crisis. Respecto a la normalización, mediante un análisis poblacional en los electrodos se mostrará que estadísticamente la normalización es la misma en todos los puntos de contacto analizados para diferentes pacientes. El segundo punto corresponde a la selección de valor  $\lambda^*$  que define el umbral de clasificación, y sobre este parámetro se realizará el procedimiento conocido como *k-fold crossvalidation* [114], aplicada sobre pacientes. El mismo consiste en dividir el conjunto de datos en uno de entrenamiento y uno de prueba. Se deja el conocido conjunto de validación (*validation set*) fuera de este análisis ya que no hay ajuste de hiperparámetros en el algoritmo propuesto. Se entrena el algoritmo con el primer conjunto, se busca el óptimo valor de superposición (como se la definió anteriormente) modificando los umbrales  $\lambda^*$ . A continuación, con un umbral fijo se mide el desempeño en el segundo conjunto de datos. Luego se realiza una reagrupación de los datos, modificando quién es el grupo de entrenamiento y quién es el de prueba. En este caso, el grupo de entrenamiento está formado por los datos correspondientes a 4 de los 5 pacientes, y el de prueba consiste en probar en el paciente restante, de manera que los 5 pacientes pasan por el conjunto de prueba en distintas

iteraciones de la validación.

En cada iteración de la validación cruzada se elegirá el mejor valor umbral ( $\lambda^*$ ) para el conjunto de 4 pacientes utilizando la totalidad de los electrodos de registro y luego de evaluará el desempeño con el mismo valor umbral en el quinto paciente, utilizando sólo aquellos electrodos que los médicos expertos marcan como involucrados en el inicio ictal. Para medir el desempeño se utilizan las medidas de superposición, falsos positivos y falsos negativos del clasificador binario.

## 5.2. Resultados



**Figura 5.13: Señales temporales filtradas en bandas.** Componentes en distintas bandas de frecuencia:  $\delta = [1, 3, 4]$ Hz (azul),  $\theta = [3, 4, 7, 4]$ Hz (rojo),  $\alpha = [7, 4, 12, 4]$ Hz (verde),  $\beta = [12, 4, 24]$ Hz (magenta) y  $\gamma = [24, 97]$ Hz (Cian), filtradas con un FIRfilter del registro de actividad eléctrica en un punto de contacto de un macroelectrodo. Las regiones donde aumenta la amplitud se corresponden con las distintas crisis epilépticas de este paciente.

Se analizan un total de 32 extractos temporales correspondientes a los datos de electrodos profundos registrados en 5 pacientes con epilepsia. La propuesta es realizar un análisis que involucra la estimación de la distribución de probabilidad de potencias en las bandas de frecuencia definidas en humanos como *delta*:  $\delta = [0, 5, 3, 4]$ Hz, *theta*:  $\theta = [3, 4, 7, 4]$ Hz, *alpha*:  $\alpha = [7, 4, 12, 4]$ Hz, *beta*:  $\beta = [12, 4, 24]$ Hz y *gamma*:  $\gamma = [24, 98]$ Hz. La figura 5.13 presenta ejemplos de señales registradas en un electrodo filtradas en las cinco bandas de interés. Las crisis corresponden a las regiones donde las señales filtradas aumentan su variabilidad.

### 5.2.1. Análisis de covarianza en el espacio tiempo-frecuencia

La propuesta metodológica consiste en realizar un análisis de covarianza temporal como el presentado en la Sec. 5.1.4 a partir de las distribuciones de datos que se obtienen para las potencias en las bandas *delta* ( $\delta$ ), *theta* ( $\theta$ ), *alpha* ( $\alpha$ ), *beta* ( $\beta$ ) y *gamma* ( $\gamma$ ). Para obtener las potencias totales en cada banda tiempo a tiempo primero se computan espectrogramas como los presentados en la Figura 5.4 y se calcula la potencia total en el

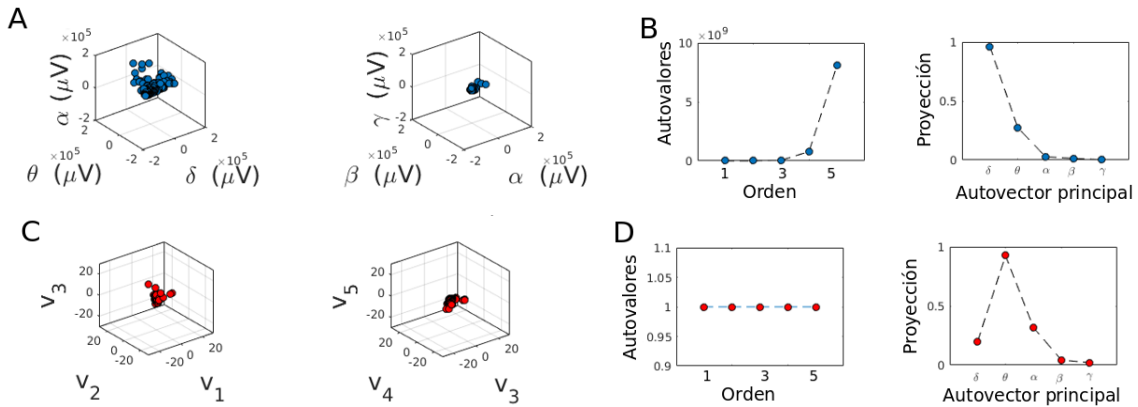


tiempo en las bandas  $[0,5, 3,4)\text{Hz}$ ,  $[3,4, 7,4)\text{Hz}$ ,  $[7,4, 12,4)\text{Hz}$ ,  $[12,4, 24)\text{Hz}$  y  $[24, 98)\text{Hz}$ , obteniéndose así cinco series temporales.

A diferencia de otros algoritmos de clasificación que usan la totalidad de los puntos de contacto para armar el clasificador binario, este análisis se realiza de manera independiente para cada punto de contacto en cada paciente (similar al propuesto por Bartolomei [115]). El motivo de realizar este análisis de esta manera radica en que el objetivo es poder decidir en qué momento cada electrodo se involucra en la crisis para armar una secuencia temporo-espacial de la propagación de la misma.

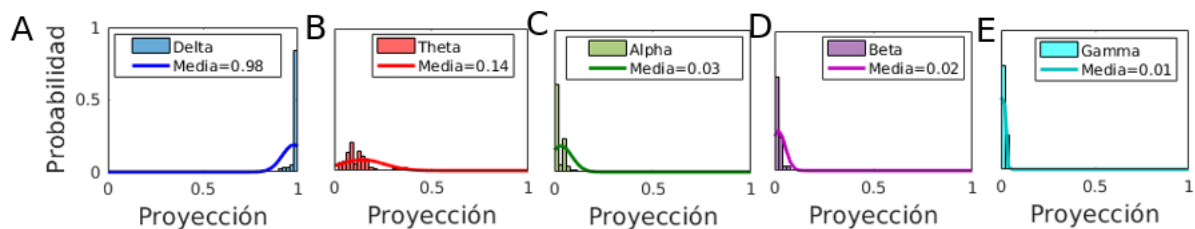
El algoritmo propuesto también permite tener interpretabilidad sobre los resultados. Sin pasar la colección de datos por una *caja negra* de clasificación, esta construcción permite, no sólo establecer la sucesión de electrodos involucrados, sino también comprender a qué características propias de la señal se asocia la crisis o la eventual alteración de la conciencia. En combinación con el análisis realizado electrodo por electrodo, este esquema permite tener una estadística de tales propiedades que pueden utilizarse para decidir que tan extrapolable son los resultados a otros pacientes o electrodos que no han sido analizados.

La Figura 5.14A muestra un ejemplo de la representación2, presentando la distribución de los datos en el espacio de potencia en las cinco bandas de frecuencia de interés. En esta representación los valores medios de potencia en cada banda fueron sustraídos. Esta representación se construye en base a los espectrogramas mostrados en la Sec. 5.1.1, y se utilizan los parámetros: tamaño de ventana temporal  $\Delta = 1\text{s}$  y superposición  $\Theta = 0\text{s}$ .



**Figura 5.14: Representación de una muestra de la distribución de potencia en bandas de frecuencia.** (A) Representación de las potencias  $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . (B) Espectro de autovalores correspondientes a la diagonalización de la matriz de covarianza de los datos de la A (derecha) y proyección de la componente principal al espacio de potencia en las bandas  $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  (izquierda). (C) Representación de los datos en la base normalizada  $V_1, V_2, V_3, V_4$  y  $V_5$ . (D) Espectro de autovalores correspondientes a los datos en la base normalizada (panel derecho). Notar que todos los autovalores son degenerados, indicando simetría en la distribución. Proyección de un autovector al espacio de potencia en bandas (panel izquierdo). Notar que en este caso la componente principal es aleatoria (porque los autovalores son todos iguales a 1) por lo que las proyecciones a banda de potencia también lo es.

La distribución de probabilidad asociada a la potencia en las bandas  $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , es asimétrica. Como muestra la Figura 5.14A existen direcciones en que los datos presentan mayor variabilidad. La dirección de máxima variabilidad se evidencia en el análisis espectral de la Figura 5.14B donde se observa que existe un autovalor significativamente diferente a los demás. La dirección de máxima variabilidad se corresponde con el ritmo delta (como se observa en la misma figura donde se muestran las componentes del autovector asociado a tal autovalor), esto se debe a que las variaciones en el ritmo delta filtrado pueden llegar a ser del orden de las variaciones que se producen durante la crisis en otras bandas de frecuencia (ver Figura 5.13). Este resultado es generalizado para los diferentes electrodos analizados y los distintos pacientes (como muestran las distribuciones de la Figura 5.15). El hecho de que la normalización sea similar para los distintos electrodos y distintos pacientes resulta de vital importancia a la hora de extender el análisis a nuevos pacientes o nuevos electrodos en los que, en un principio, no se disponga de la cantidad de datos suficientes para realizar una correcta normalización. Para utilizar esta normalización en nuevos pacientes podría utilizarse como parámetro fijo, por ejemplo, los valores medios de proyección en cada dimensión obtenidos de las distribuciones de la Figura 5.15.



**Figura 5.15: Proyección de la dirección principal en el espacio de bandas de frecuencias.** Se presentan las distribuciones de probabilidad de la proyección en cada una de las bandas de frecuencia analizadas para los distintos electrodos involucrados en el comienzo de la crisis, antes de la normalización. Se muestran las distribuciones y su correspondiente ajuste gaussiano. Los valores medios de la gaussiana se presentan en la leyenda de cada subfigura. (A) Proyección de  $\delta$ . (B) Proyección de  $\theta$ . (C) Proyección de  $\alpha$ . (D) Proyección de  $\beta$ . (E) Proyección de  $\gamma$ .

La evidencia mencionada sugiere que, para utilizar el análisis de covarianza como clasificador de regiones de la señal, es necesario realizar la normalización de los datos (Sec. 5.1.4). El objetivo de la normalización es buscar aquellas fluctuaciones en la variabilidad de la señal que son intrínsecas del período ictal, y que no son heredadas del período inter-ictal. La Figura 5.14C muestra los valores obtenidos para la misma señal presentada en 5.14A pero en el espacio normalizado. En el espacio normalizado, teóricamente, las distribuciones son esféricamente simétricas. En este caso la distribución aún presenta algunas asimetrías en su representación debido a la cantidad finita (y pequeña) de datos utilizados. Sin embargo, la Figura 5.14D muestra que su matriz de covarianza es la identidad, debido a que la normalización se realizó exclusivamente para estos datos. En este caso no existe autovector principal, pero si se toma una pequeña

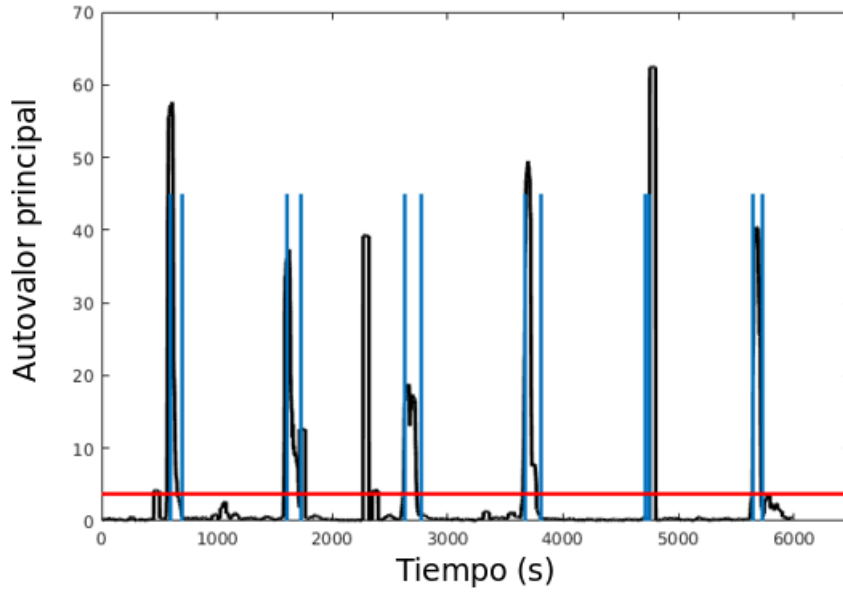
porción de los datos y por razones de muestreo finito existe una dirección de asimetría, el autovector asociado a tal dirección es aleatorio (con probabilidad uniforme entre todas las direcciones).

### 5.2.2. Detección automática de crisis

Dada una señal temporal de voltaje, registrada con electrodos profundos intra-craneales, se quiere utilizar el análisis de covarianza propuesto en la Sec. 5.2.1 para clasificar los segmentos temporales correspondientes a períodos ictales e interictales y determinar el momento en el cual cada electrodo se involucra en la crisis. En principio se desea realizar dicho análisis teniendo en cuenta sólo los 109 segmentos temporales que fueron marcados por el experto como aquellos involucrados en el inicio ictal, para luego pasar a utilizar la totalidad de los segmentos. Las Secciones 5.2.1 y 5.1.2 muestran que es posible realizar el análisis de clasificación utilizando el método de covarianza en el espacio tiempo-frecuencia utilizando una ventana deslizante. En esta sección se utilizará el análisis con ventana deslizante propuesto para clasificar los registros proporcionados por las Dras. Cámpora y Kochen, y determinar el momento en el cual cada electrodo se involucra en la crisis. Se presentarán los resultados obtenidos con una ventana deslizante de 25s de duración, y superposición 24s. Resultados similares se obtuvieron al utilizar una ventana de 50s de duración. La mayor diferencia entre ambos tamaños de ventana radica en los valores que adquieren los parámetros apropiados para la detección (para evitar falsos positivos).

La Figura 5.16 muestra la evolución en el tiempo del autovalor principal  $\lambda(t)$  computado a partir de la matriz de covarianza en el espacio normalizado ( $c'(t)$ ) que se obtiene con una ventana deslizante de longitud 25s (25 puntos, debido a que el espectrograma se computó con ventanas deslizantes de  $\Delta = 1$ s con superposición  $\Theta = 0$ s) segundo a segundo (desplazamiento de la ventana de 1s, es decir superposición de 24s), para un punto de contacto de un macroelectrodo en el paciente 2. En el mismo gráfico se muestra el resultado del análisis de autovalores aleatorios que se obtendrían mezclando todos los datos ( $\lambda^*$ ). Debido a la existencia de pocos segmentos inter-ictales, la distribución global de los datos tiene una alta proporción de fragmentos temporales pertenecientes al período ictal. Esto significa que la matriz de covarianza obtenida de todos los datos no se encuentra estrictamente dominada por el período inter-ictal. Al tener fluctuaciones mayores el período ictal, y contribuir significativamente a la normalización, la misma se realiza comprimiendo en exceso algunas direcciones. Por este motivo el valor de  $\lambda^*$  en los períodos inter-ictales es, en algunas ocasiones, menor a 1.

El enfoque presentado no es el primero en utilizar las propiedades del espectro de frecuencias para detectar regiones involucradas en la crisis epiléptica. De hecho, en [115], se proponen las medidas de *índice epileptógeno* e *índice epileptógeno acu-*



**Figura 5.16: Ejemplo de análisis de covarianza en ventana deslizante.** Señal  $\lambda(t)$  correspondiente al autovalor principal de las matrices  $c'(t)$  para la señal espectral de todas las crisis del paciente 2 en un contacto del macroelectrodo concatenadas (negro). En color rojo se muestra el valor bajo el cual está 95 % de los casos test de hipótesis nula que resulta al mezclar todos los datos. Las líneas verticales celestes muestran las marcas temporales de inicio y fin de crisis propuesta por un médico especialista a partir del análisis visual de las series temporales.

*mulado* como cuantificadores para detectar las regiones involucradas cerebrales en la crisis. Si  $E_i(t)$  es la potencia (o energía) en la banda  $i$ -ésima a tiempo  $t$  (donde las bandas posibles pueden ser  $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  o  $\gamma$ ), el índice epileptógeno (**EI**) se define como  $EI(t) = E_\beta(t) + E_\gamma(t)/E_\theta(t) + E_\alpha(t)$  y el índice epileptógeno acumulado (**CEI**) a tiempo  $t_0$  se define como la diferencia acumulada hasta el tiempo  $t_0$  entre  $EI(t)$  y su valor medio  $\langle EI \rangle_t$ :

$$\langle EI \rangle_t = \frac{1}{t} \sum_{t'=0}^t EI(t')$$

$$CEI(t_0) = \sum_{t=0}^{t_0} (EI(t) - \langle EI \rangle_t - \nu)$$

(5.4)

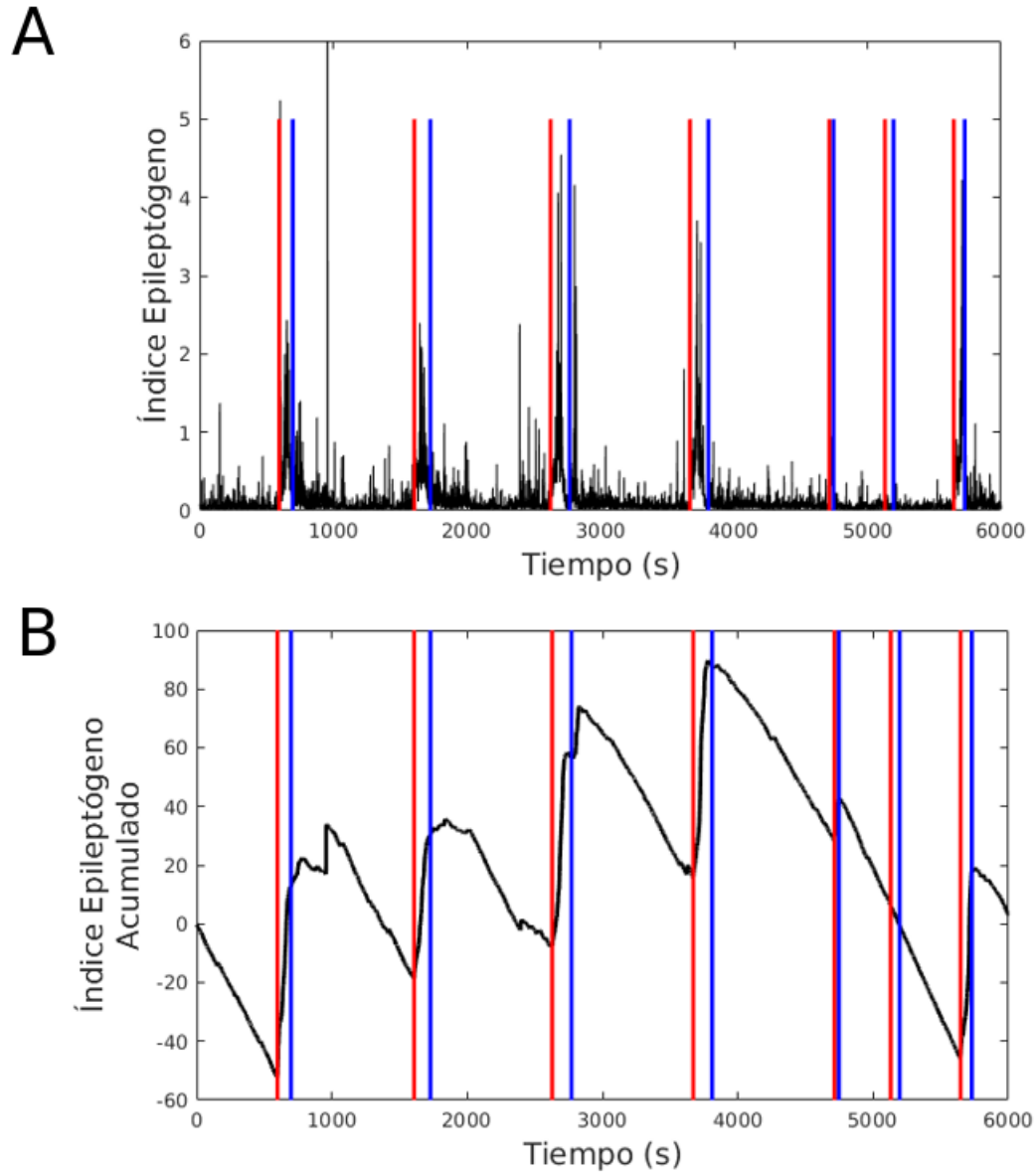
donde  $\nu$  es una constante positiva. Por construcción, bajo la hipótesis de que no ocurren cambios en  $EI(t)$ ,  $CEI(t)$  es una función monótonamente decreciente. La detección ocurre cuando esta función cambia su pendiente y se encuentra un mínimo local en

$CEI(t)$ . Computacionalmente esto se implementa utilizando un valor umbral  $\lambda_{EI}$  que determina cuando comienza a aumentar  $CEI(t)$  respecto su valor mínimo para todos los tiempos anteriores. Es decir, sea  $cei_t$  el mínimo valor de  $CEI(t') \forall t' < t$ , entonces se rechaza la hipótesis nula cuando  $CEI(t') - cei_t > \lambda_{EI}$  para algún  $t' > t$ . Cuando termina la crisis, el valor acumulado se resetea a cero.

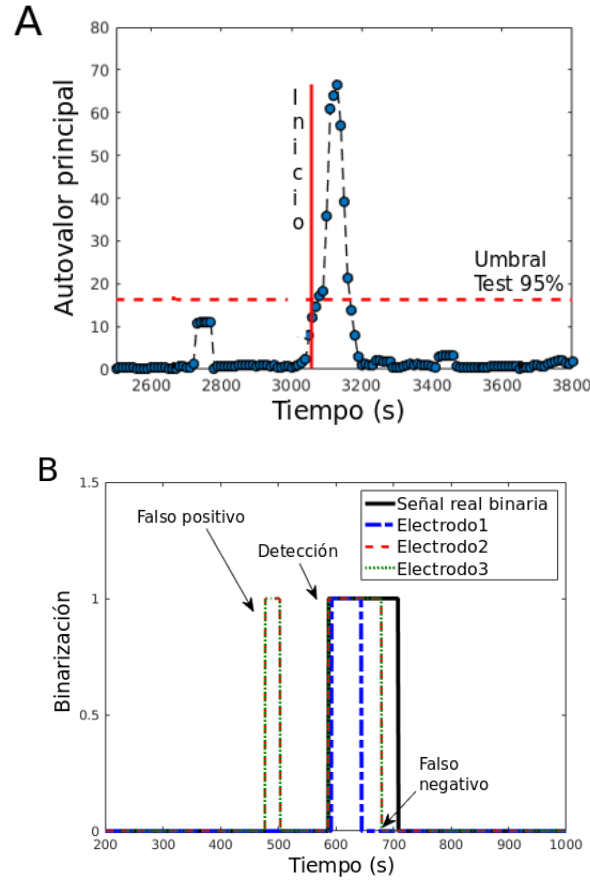
Para mostrar esta construcción se muestran a continuación la evolución en el tiempo de los índices **EI** y **CEI** en la Figura 5.17. El ejemplo presentado corresponde a los mismos datos utilizados para construir la Figura 5.16. En color negro se muestra en 5.17A la evolución de **EI** y en líneas verticales rojas (azules) se muestran los inicios (finales) de crisis. El índice epileptógeno es altamente ruidoso, pero puede observarse que las fluctuaciones adquieren mayor amplitud en las regiones ictales. En 5.17B se presenta el **CEI** (color negro), también con los inicios y finales de crisis marcados. Se observa la tendencia decreciente en el valor del índice epileptógeno acumulado en las regiones previas al inicio ictal, y una inflexión en las regiones cercanas al punto de comienzo ictal. Tal inflexión corresponde a un mínimo local y, a continuación, el valor del índice epileptógeno acumulado es creciente dentro de la crisis. En este ejemplo, luego de finalizada la crisis el **CEI** no se resetea a cero pero, la tendencia decreciente al finalizar la misma puede observarse independientemente del valor que toma al iniciar el fin de crisis.

En el ejemplo de la Figura 5.16 todas las crisis marcadas por nuestras colaboradoras Dra. Cámpora y Dra. Kochen son detectadas por el algoritmo de covarianzas propuesto. Entre las líneas verticales celestes siempre hay un segmento en el cual la línea negra (autovalor principal) supera el umbral propuesto por el test de aleatoriedad marcado con la línea horizontal roja. Sin embargo, también se detectan falsos positivos, por ejemplo en el segmento [2000, 3000]s hay una región donde la línea negra supera el umbral pero no se corresponde con ninguna crisis marcada. Es necesario entonces hacer un análisis sistemático para cuantificar cuántas crisis son detectadas y cómo la detección depende de parámetros tales como: el tamaño de la ventana deslizante o la significancia con la que se realiza el test de aleatoriedad, para luego compararla con la detección propuesta por [115].

Para aquellos puntos de contacto de los electrodos que el médico experto marca como involucrados en el comienzo de la crisis (total 109 puntos de contacto en diferentes crisis, lo que representa menos del 10 % de los segmentos totales), se realiza una binarización de la señal como la que se presenta en la Figura 5.18B. La binarización consiste en generar una señal  $\omega_{bin}(t)$  donde todos aquellos puntos que satisfacen  $\lambda(t) < \lambda^*$  son igualadas a cero, y a aquellos puntos donde  $\lambda(t) > \lambda^*$  son igualados a uno. Se construye una señal binaria análoga con las marcas del médico  $\omega_{real}(t)$ : a la región inter-ictal se le asigna el valor cero, y al período ictal se le asigna valor 1. Para comparar el algoritmo propuesto con el índice epileptógeno, se genera una señal equivalente  $\omega_{ei}(t)$  la cual se



**Figura 5.17: Ejemplo de evolución en el tiempo del índice epileptógeno.** (A) Señal  $EI(t)$  correspondiente al índice epileptógeno en el tiempo en color negro. En color rojo se muestra el inicio eléctrico marcado por médicos expertos y en azul el final del mismo. (B) Señal  $CEI(t)$  correspondiente al índice epileptógeno acumulado en el tiempo en color negro. En color rojo se muestra el inicio eléctrico marcado por médicos expertos y en azul el final del mismo.



**Figura 5.18: Detección de crisis por covarianza.** (A) Ejemplo ampliado del autovalor principal  $\lambda(t)$  de la matriz  $c'(t)$  para el paciente 1 para una crisis en un electrodo (azul). A a partir de la línea roja punteada horizontal se construye la señal binaria asignado ceros a las zonas donde la curva azul se encuentra por debajo de la línea punteada roja (95 % del test de hipótesis nula), y uno en las zonas donde la curva azul es mayor a la línea punteada roja. Con una línea roja vertical se denota el tiempo de inicio de crisis marcado por un médico experto. (B) Ejemplo de binarización de una señal en la región de la crisis. Se presenta la binarización obtenida con la marca de la Dra. Cámpora (negro), y ejemplos de la señal binaria que se obtiene a partir del análisis de señales como en A para tres contactos diferentes en el mismo macroelectrodo en la crisis 1 del paciente 2.

construye siguiendo la descripción anterior y se utilizan distintos valores umbrales  $\lambda_{EI}$  para evaluar el algoritmo. En el caso particular de este algoritmo, para decidir el final de crisis se utiliza el mismo criterio (mismo valor  $\lambda_{EI}$ ) para encontrar una inflexión pero en este caso correspondiente a un máximo.

Teniendo en cuenta todos los electrodos involucrados en el comienzo se computa el valor medio global de superposición como se define en la Ec. 5.3. La Tabla 5.1 muestra los valores de superposición obtenidos para distintos umbrales  $\lambda^*$ , y la Figura 5.23 presenta el gráfico de porcentaje para la selección de umbral correspondiente al percentil 0,95. Para realizar una comparación, en la Tabla 5.2 se muestran los resultados obtenidos con el índice epileptógeno. En este caso, al modificar el umbral  $\lambda_{EI}$  se modifican principalmente la cantidad de falsos positivos y falsos negativos detectados. Los valores presentados en las Tablas 5.1 y 5.2 muestran que el algoritmo propuesto realiza una categorización binaria en el tiempo con mayor precisión media que el índice epileptógeno.

**Tabla 5.1:** Detección binaria con distintos umbrales con algoritmo de covarianza.

Test	90 %	95 %	99 %
Precisión Binaria	0.92	0.93	0.93
Falsos Positivos	0.05	0.03	0.01
Falsos Negativos	0.03	0.03	0.06

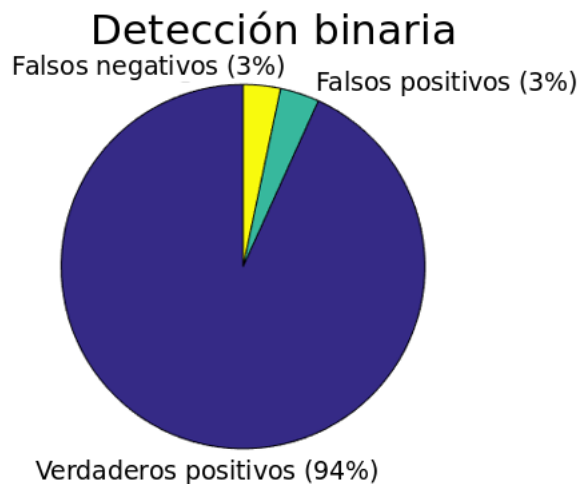
**Tabla 5.2:** Detección binaria con distintos umbrales  $\lambda_{EI}$  con índice epileptógeno.

Valor umbral $\lambda_{EI}$	1	5	10
Precisión Binaria	0.72	0.74	0.72
Falsos Positivos	0.21	0.20	0.24
Falsos Negativos	0.06	0.05	0.04

El valor de superposición se encuentra principalmente dominado por el hecho de que las regiones fuera de crisis son correctamente clasificadas, y porque estadísticamente hay más segmentos correspondientes al período inter-ictal (recordar lo que se pide para utilizar el algoritmo de la Sec. 5.1.4). En la Figura 5.20 se presentan las distribuciones de superposición utilizando distintos criterios sobre el test de aleatoriedad y, se compara dicha distribución con los valores de superposición que se obtendrían si la clasificación fuese generada al azar de una distribución de Bernoulli que preserva la misma cantidad de elementos en cada categoría que los datos reales. A su vez, la Figura 5.21 muestra las distribuciones de valores de superposición obtenidos con el método propuesto en [115] para los 109 electrodos analizados.

Según muestran las distribuciones de valores de superposición, el análisis de covarianza resulta en un conjunto de valores de superposición que son mejores que los que



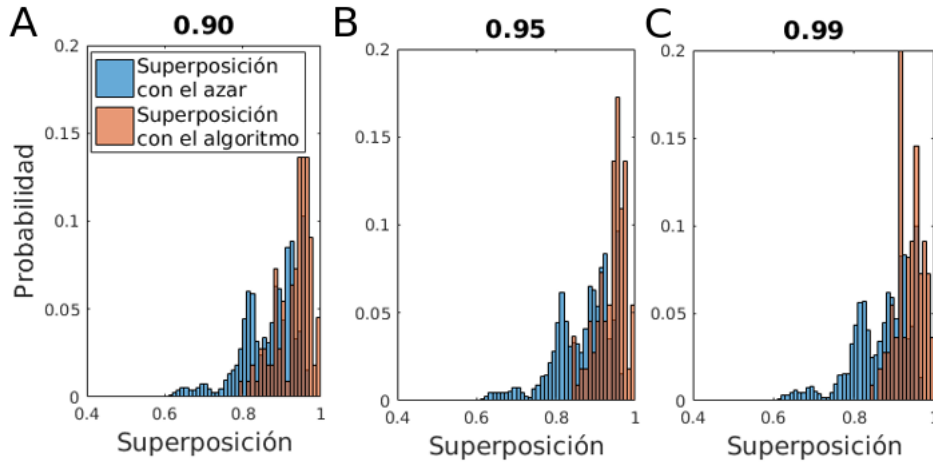


**Figura 5.19: Ejemplo de superposición binaria.** Porcentaje total de superposición entre todas las señales binarias correspondientes a electrodos de inicio de crisis marcados por el médico experto y las señales generadas con el algoritmo de detección para los mismos electrodos. Los parámetros utilizados son: ventana deslizante de 25s (con superposición de 24s) y 95 % del test de aleatoriedad.

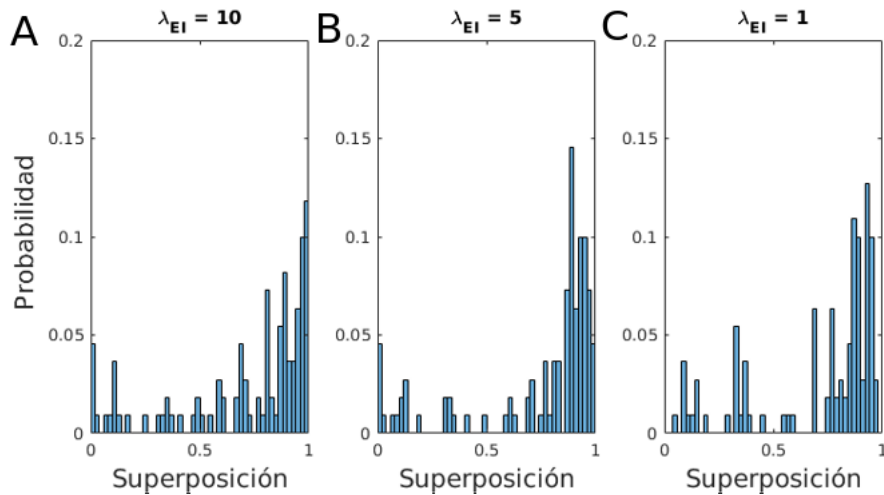
se obtienen del azar, y también que los que se obtendrían con el índice epileptógeno. En el caso del último, si bien en muchos electrodos la clasificación alcanza valores altos de superposición con la real, otros electrodos no son adecuadamente clasificados, teniendo valores de superposición muy chicos. Esta evidencia demuestra que el algoritmo propuesto clasifica mejor que el azar, y mejor que otros algoritmos que utilizan la señal en el espacio de frecuencias los períodos ictales e inter-ictales. En adelante nos concentraremos principalmente en mediciones sobre la calidad del algoritmo basado en el método de covarianzas.

Hasta este punto, el único parámetro involucrado en la categorización es el umbral  $\lambda^*$ . El análisis previo se realiza seleccionando un valor umbral electrodo por electrodo. Idealmente, se quiere saber que tan buena es la selección de un umbral para otros electrodo y otros pacientes. Cabe destacarse que la normalización realizada permite asegurar que, fuera de la crisis, la estadística de potencia en bandas tiene la misma simetría para todos los electrodos y esta afirmación permite hipotetizar que el algoritmo seguirá funcionando en otros pacientes. Para verificarlo, a continuación se presenta el análisis por validación cruzada. La Figura 5.22 muestra un ejemplo de la distribución de valores de  $\lambda_{test}$ , y se señala un ejemplo de valor umbral  $\lambda^*$  y la Tabla 5.3 presenta los valores de superposición, falsos positivos y falsos negativos obtenidos en las distintas repeticiones de la validación cruzada. Para computar cada una de estas medidas sólo se utilizan aquellos electrodos involucrados en el inicio de la crisis de cada uno de los pacientes.

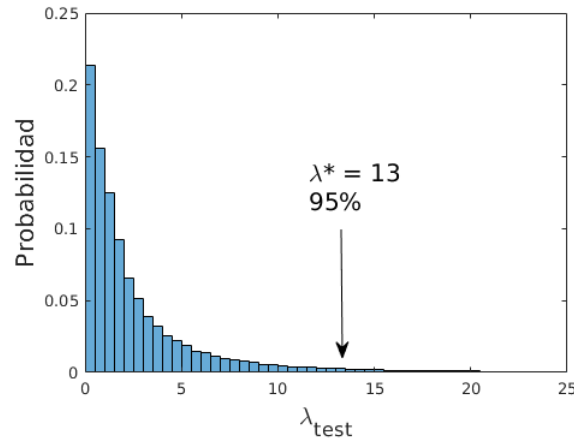
A partir del análisis de validación cruzada puede decirse que el método propuesto



**Figura 5.20: Distribución de valores de superposición para los 109 electrodos.** Distribuciones de valores de superposición entre la señal real  $\omega_{real}(t)$  y  $\omega_{bin}(t)$  generada para cada electrodo (color naranja) y distribución de superposición entre  $\omega_{real}(t)$  y  $\omega_{azar}(t)$  binaria que se genera a partir de una distribución de Bernoulli que preserva la misma proporción de elementos iguales a 1 que la señal original  $\omega_{real}(t)$ . (A) Utilizando el criterio de línea base sobre el 90 %. (B) Utilizando el criterio de línea base sobre el 95 %. (C) Utilizando el criterio de línea base sobre el 99 %.



**Figura 5.21: Distribución de valores de superposición para los 109 electrodos utilizando el índice epileptógeno.** Distribuciones de valores de superposición entre la señal real  $\omega_{real}(t)$  y  $\omega_{ei}(t)$  generada para cada electrodo. (A) Utilizando el criterio umbral  $\lambda_{EI} = 10$ . (B) Utilizando el criterio umbral  $\lambda_{EI} = 5$ . (C) Utilizando el criterio umbral  $\lambda_{EI} = 1$ .



**Figura 5.22:** Ejemplo de distribución de valores del umbral  $\lambda_{test}$ . Diferentes valores de umbral  $\lambda_{test}$  que se obtienen al mezclar los datos del análisis de covarianza, utilizando 25 puntos. En el ejemplo se mezclan los valores del test de hipótesis correspondientes a todos los electrodos en 4 de los 5 pacientes. El valor  $\lambda^*$  se utiliza luego para medir el desempeño del algoritmo en el quinto paciente.

puede aprenderse (en sentido de fijar un umbral) de un conjunto de pacientes, e implementarse en un nuevo paciente. Además mediante este análisis puede obtenerse un valor medio de  $\lambda^*$  a partir de los valores utilizados para los distintos pacientes. En este caso resulta  $\langle \lambda^* \rangle = 13,165$ . Este valor puede utilizarse como umbral en casos nuevos, y se espera que se obtengan valores de medidas como la superposición similares a los obtenidos con la validación.

**Tabla 5.3:** Validación cruzada paciente por paciente. Se presentan los resultados de superposición, falsos negativos y falsos positivos medios de todos los electrodos involucrados en la crisis de cada paciente. Para hacer la validación se utiliza un valor de  $\lambda^*$  umbral que se obtiene del análisis de los demás pacientes. Se reporta en esta tabla los valores umbrales utilizados en cada validación.

Medidas	P1	P2	P3	P4	P5	Media
Superposición	0,945	0,935	0,96	0,955	0,933	0,946
Falsos Negativos	0,038	0,042	0,028	0,016	0,027	0,03
Falsos Positivos	0,016	0,023	0,027	0,030	0,038	0,026
Valor $\lambda^*$	13,05	13,15	13,25	13,15	13,20	13,165

Más importante para este análisis resulta el cálculo de la fracción de las crisis (o de los electrodos involucrados) que son correctamente detectadas con secuencia temporal completa en crisis. Para ello es necesario realizar un análisis de precisión y exhaustividad en la detección de crisis y electrodos, más allá de la superposición binaria. A continuación se considera que una crisis es detectada cuando al menos uno de los electrodos marcados por el médico experto como electrodo de inicio es detectado por el algoritmo. Se utilizan dos parámetros para evaluar la correcta detección de crisis en electrodos: el primero refiere al umbral  $\lambda^*$  (o el porcentaje sobre el test de hipótesis

nula) y el segundo al tamaño de la superposición positiva en el momento de la crisis entre las señales  $\omega_{bin}$  y  $\omega_{real}$ . Es decir, durante cuanto tiempo dentro de la crisis (real) el algoritmo detecta adecuadamente con un verdadero positivo. Al momento de utilizar el algoritmo de manera enteramente automática el segundo parámetro se transforma en un requerimiento de la longitud mínima de clasificaciones positivas en el tiempo para considerar que se detectó una crisis. En este trabajo dicho tiempo se elige como un porcentaje del tamaño de la ventana deslizante utilizada. Por inspección visual se llegó a la conclusión de que necesariamente los segmentos correctamente detectados tienen que tener una longitud mayor al tamaño de la ventana deslizante para evitar la mayor cantidad de falsos positivos.

La Tabla 5.4 muestra los resultados de exhaustividad para distintos valores de umbral ( $\lambda^*$ ) en la detección de crisis y de electrodos (donde se deja fijo el tamaño de ventana continua en la que se detecta correctamente la crisis en 30s). El parámetro umbral se presenta como un porcentaje del test de significancia, siendo utilizados los valores 90 %, 95 % y 99 %. La Tabla 5.5 muestra la exhaustividad para distintas longitudes de superposición con verdaderos positivos entre  $\omega_{bin}$  y  $\omega_{real}$  (dejando fijo el umbral en 95 %).

**Tabla 5.4:** Detección : *Exhaustividad* con distintos umbrales.

Test	90 %	95 %	99 %
Detección de crisis	0,82	0,82	0,6
Detección de electrodo	0,84	0,79	0,36

**Tabla 5.5:** Detección: *Exhaustividad* con distintas ventanas de superposición.

Tamaño de ventana	30s	37s	40s	45s
Detección de crisis	0,82	0,79	0,79	0,78
Detección de electrodos	0,79	0,73	0,70	0,68

Si se desea utilizar el algoritmo sin ninguna información proporcionada por los médicos, es necesario saber cuántas de las detecciones de electrodos en el total son verdaderos positivos y cuántas falsos positivos. La Tabla 5.6 presenta el análisis de precisión realizado con distintas selecciones del umbral (en porcentaje del test estadístico) para la detección de electrodos involucrados en la crisis y la Tabla 5.7 para diferentes tamaños de superposición con verdaderos positivos entre  $\omega_{bin}$  y  $\omega_{real}$ . En cada caso se utilizan los mismos parámetros fijos que para las Tablas 5.4 y 5.5.

En el caso en el que se desconoce cuáles son los electrodos involucrados en el comienzo de la crisis se utilizarían todos los electrodos de registro para realizar el análisis. En este caso, se utilizarían todos los electrodos (o segmentos temporales) disponibles resultando en un total de aproximadamente 1599 segmentos temporales de los cuales

**Tabla 5.6:** Detección: *Precisión* con distintos umbrales.

Test	90 %	95 %	99 %
Verdaderos Positivos	0,69	0,77	1
Falsos Positivos	0,31	0,23	0

**Tabla 5.7:** Detección: *Precisión* con distintas ventanas de superposición.

Tamaño de ventana	30s	37s	40s	45s
Verdaderos Positivos	0,77	0,84	0,9	0,95
Falsos Positivos	0,23	0,15	0,1	0,04

deben detectarse los 109 involucrados en la crisis; pero también una crisis puede ser detectada por otro electrodo que no estaba incluido en los 109 iniciales. La Tabla 5.8 (Tabla 5.9) muestra la exhaustividad (precisión) en la detección de crisis cambiando el tamaño de ventana de superposición cuando se utilizan todos los electrodos de registro. En este caso lo que importa es si algún electrodo detecta la crisis, independientemente de si son o no los marcados por los médicos, lo cual es el escenario más similar a la utilización enteramente automática.

**Tabla 5.8:** Detección de crisis con distinto tamaño de superposición: *Exhaustividad* utilizando todos los electrodos.

Tamaño de ventana	45s	50s
Detección de crisis	0,82	0,79

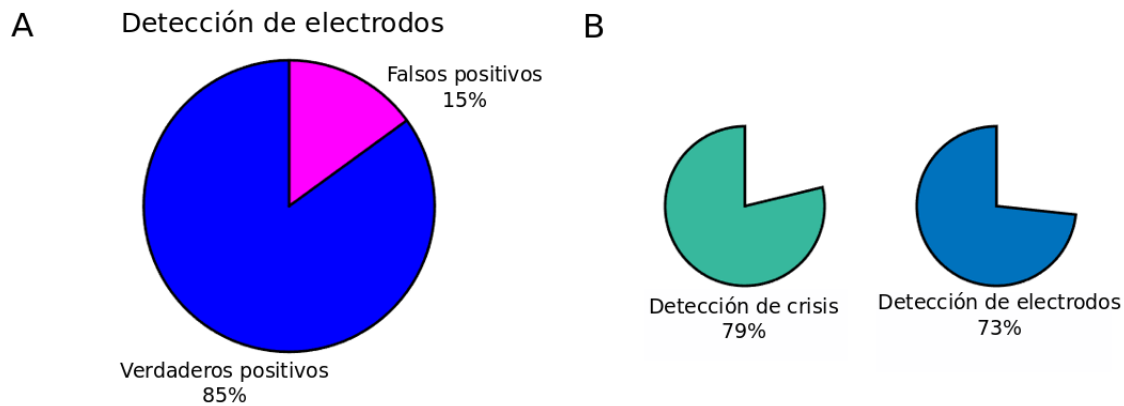
Del análisis de umbrales y superposición se obtiene que una configuración óptima (o de compromiso) para la detección corresponde a un umbral del 95 % y una superposición de ventanas de 45s (cuando la ventana deslizante es de 25s). Para tomar esta decisión es necesario mirar los valores de precisión y exhaustividad, ya que se podrían elegir parámetros tales que la precisión sea del 100 % (es decir, todo lo detectado sea crisis), pero que la exhaustividad sólo alcance el 60 % (es decir, sólo se detecten un poco más de la mitad de las crisis); o al revés que se detecten todas las crisis, pero que también se detecte una alta cantidad de falsos positivos. Determinar estos parámetros permite pasar al análisis de propagación espacio-temporal teniendo en cuenta cuales son las limitaciones del algoritmo respecto a posibles errores en la clasificación.

### 5.2.3. Propagación espacio-temporal de la crisis

El médico experto proporciona la información del tiempo de comienzo de la crisis  $t_0$  únicamente en los electrodos de inicio (y en algunos casos sobre electrodos llamados *de propagación*). Sin embargo, cuando la crisis es generalizada, poco tiempo después otros electrodos son reclutados y comienzan a tener actividad eléctrica anómala. Para

**Tabla 5.9:** Detección de crisis con distinto tamaño de superposición: *Precisión* utilizando todos los electrodos.

Tamaño de ventana	45s	50s
Verdaderos Positivos	0,84	0,87
Falsos Positivos	0,15	0,13



**Figura 5.23: Precisión y exhaustividad.** Análisis de detección de crisis y de electrodos. (A) *Precisión* ( $VP/(VP+FN)$ ) en la detección de crisis epiléptica con ventana deslizante de 25s, superposición de 45s, 95 % del test de aleatoriedad utilizando sólo los electrodos marcados como de inicio por la médica experta. (B) *Exhaustividad* ( $VP/(VP+FP)$ ) en la detección de crisis epiléptica (verde) y *exhaustividad* en la detección de electrodos involucrados en la crisis (azul). Se considera que una crisis es detectada si al menos uno de los electrodos marcados por el médico experto es detectado en el intervalo correcto con superposición de 45s.

caracterizar la propagación a los diferentes electrodos es necesario conocer con que precisión o defasaje temporal ( $\tau = t_0 - t^*$ ) el algoritmo detecta los electrodos de inicio, donde  $t^*$  es el tiempo que marca el algoritmo. La Tabla 5.10 muestra los valores estadísticos que caracterizan el histograma de distribución de tiempos de retardo  $\tau$  con el parámetro de superposición de ventana de detección variable. La detección siempre se produce con un retraso temporal.

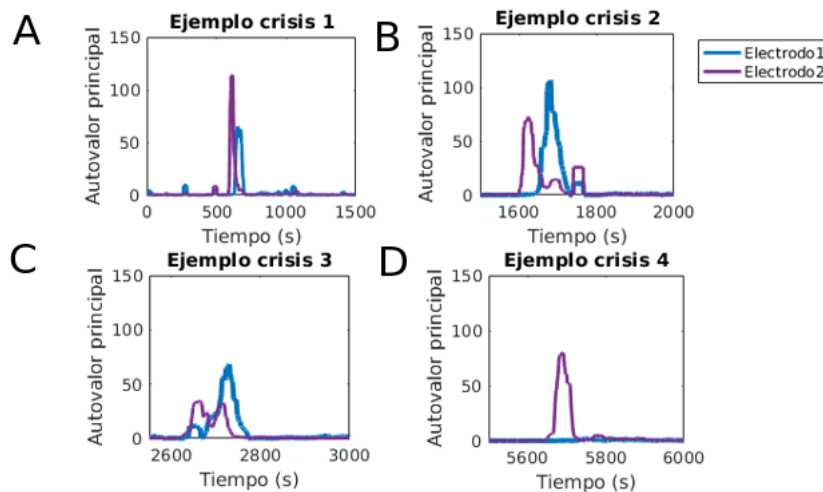
**Tabla 5.10:** Tiempo de detección.

Tamaño de ventana	30s	45s	50s
Media	10s	8s	8s
Desvío Estándar	14s	10s	10s
Mediana	5s	5s	5s
Máximo	94s	47s	47s

El análisis de precisión en la detección permite decir que, con los parámetros utilizados (umbral del 95 % y una superposición de ventanas de 45s), el 85 % de las crisis son detectadas, mientras que el análisis de precisión temporal indica que la crisis siempre se detecta de manera atrasada. Se utilizan a continuación para el análisis de propagación los parámetros que hacen que el máximo atraso sea de 47s, y que mantiene valores ra-

zonables de *precisión* y *exhaustividad*. Si bien no se incluye en este capítulo, se realizó una medición de la precisión temporal utilizando el índice epileptogénico. Si bien en este caso se obtuvieron algunos valores negativos (correspondientes a crisis que podrán predecirse), el valor medio de la distribución resultó un orden de magnitud mayor a los hallados con distintos criterios mediante el método de covarianzas.

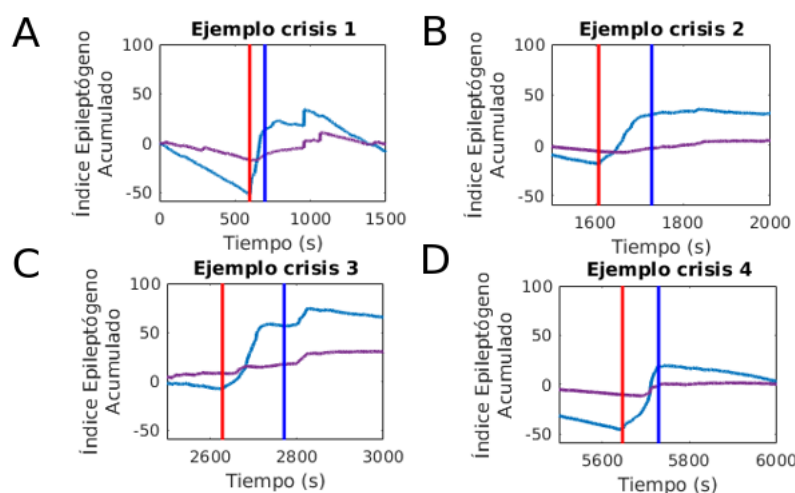
Utilizando el algoritmo propuesto en cada punto de contacto, se obtiene la secuencia de tiempos en los cuales cada uno comienza a tener actividad anómala o epileptógena. La Figura 5.24 presenta ejemplos de la evolución del autovalor principal en diferentes crisis y en dos electrodos distintos, donde pueden observarse distintos casos en los cuales el involucramiento de un electrodo precede al otro. En este caso particular uno de los electrodos fue marcado como de inicio por los expertos, pero el otro es detectado por el algoritmo aunque no haya sido marcado. Por completitud se muestra en la Figura 5.25 el análisis equivalente que se realizaría, en el mismo par de electrodos y las mismas crisis, utilizando el índice epileptógeno acumulado. Si bien con este último análisis alguno de los electrodos presenta la inflexión necesaria para realizar la detección (color azul), no resulta evidente que se pueda analizar la propagación de la crisis con el mismo algoritmo, ya que el otro electrodo no tiene grandes fluctuaciones o puntos de inflexión (color morado). Es fenómeno puede explicar, en parte, porque nuestro algoritmo detecta mejor (en términos de superposición binaria) que el índice epileptógeno.



**Figura 5.24: Autovalor principal y propagación de la crisis en dos electrodos.** Ejemplos de autovalores principales en el tiempo para distintas crisis y dos electrodos diferentes, uno de ellos marcado por las médicas expertas como involucrado en el inicio (color morado) y otro no involucrado en el inicio (color azul).

A continuación, se realiza el análisis de propagación teniendo en cuenta todos los electrodos registrados en cada crisis. La Figura 5.26 presenta dos ejemplos de cómo los distintos puntos de contacto son incorporados a la actividad epileptógena de dos pacientes diferentes.

La Figura 5.26 muestran ejemplos de una crisis bilateral ( 5.26A) y una unilateral



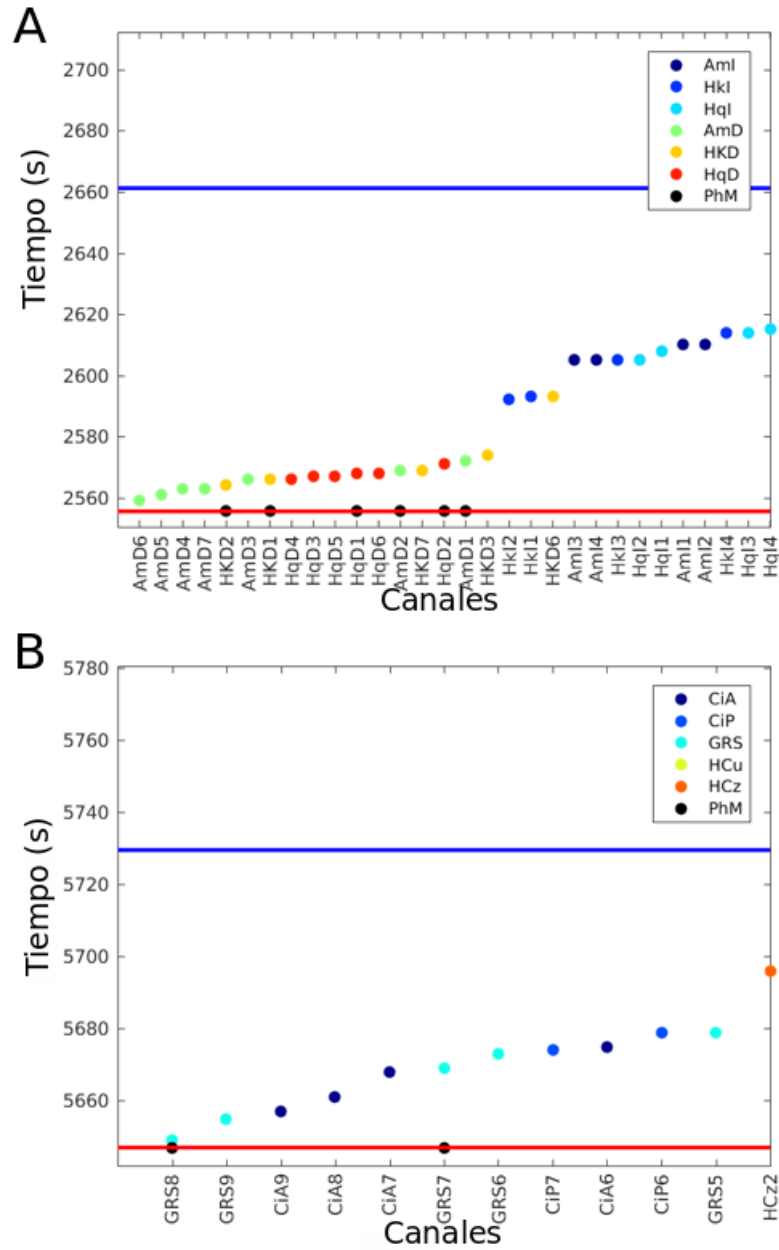
**Figura 5.25: Índice epileptógeno en el tiempo para dos electrodos.** Ejemplo de índice epileptógeno para distintas crisis y dos electrodos diferentes, uno de ellos marcado por las médicas expertas como involucrado en el inicio (color azul) y otro no involucrado en el inicio (color morado).

( 5.26B). En el caso de la crisis bilateral, todos los electrodos marcados por el médico experto son detectados y además, el algoritmo muestra que primero se reclutan los puntos de contacto del hemisferio donde comenzó la crisis (verde, amarillo y rojo corresponden a electrodos implantados en el hemisferio derecho), y luego los puntos de contacto del otro hemisferio (azul1, azul2 y celeste corresponden a electrodos implantados en el hemisferio izquierdo). Esta información coincide con el reporte médico que indica que la crisis tiene inicio en lateralidad derecha y luego se propaga al lado izquierdo. En el caso de la crisis unilateral, todos los datos corresponden al mismo hemisferio, pero lo importante de este ejemplo es que muchos de los puntos de contacto ubicados en el macroelectrodo de inicio se involucran progresivamente en la crisis: el contacto GRS8 es el de inicio, luego se involucra el más cercano y profundo (GRS9) y en sucesión temporal se van involucrando GRS7, GRS6 y GRS5.

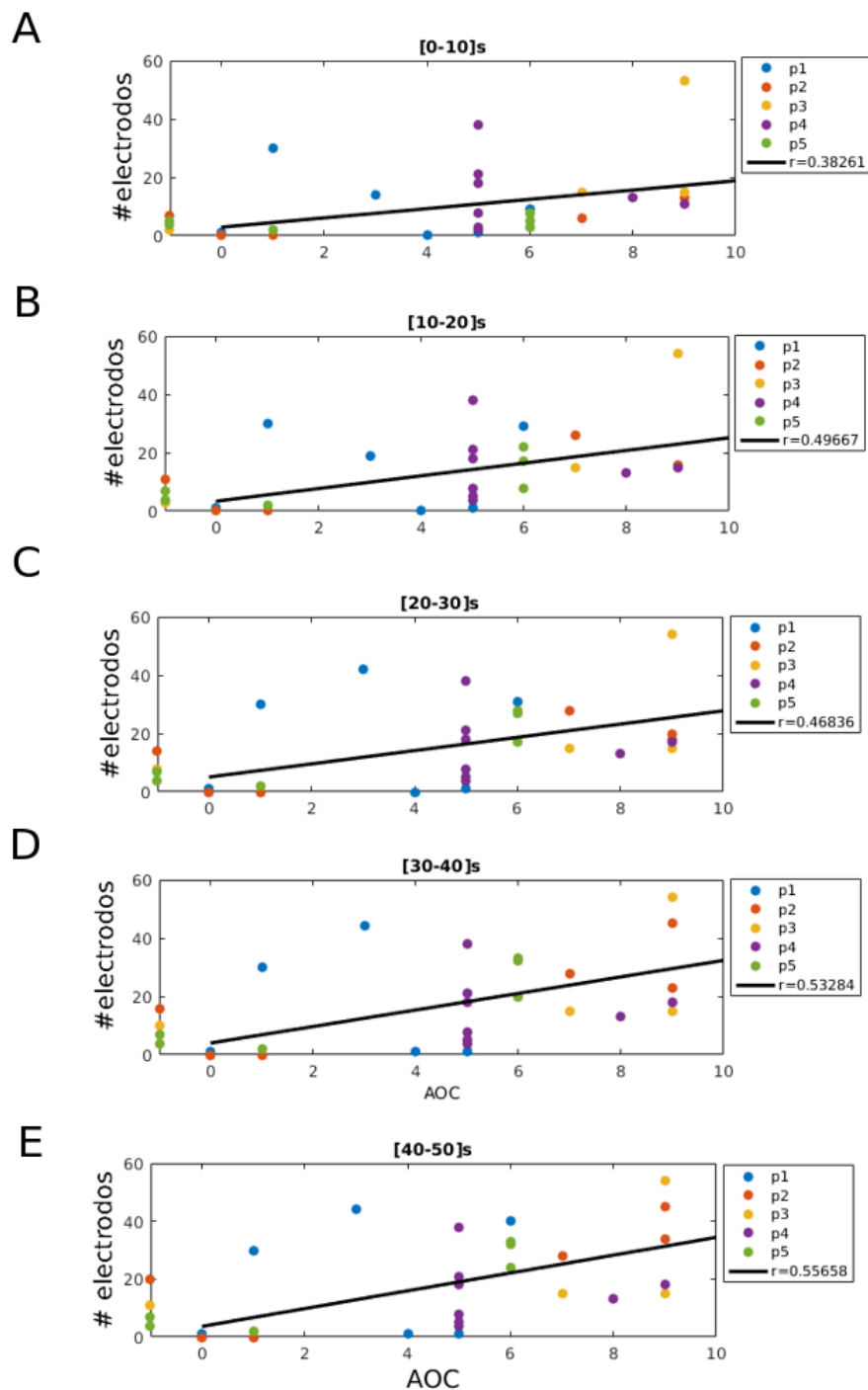
#### 5.2.4. Propagación y alteración de la conciencia

La detección automática con todos los electrodos permite tener información respecto a cuántos electrodos se encuentran involucrados en la crisis a un tiempo específico. Esta información permite evaluar otras características de la crisis, cómo pueden ser, cuáles regiones específicas se encuentran involucradas al momento de alteración de la conciencia, cuántos electrodos fueron reclutados con actividad anómala, o cuál es la secuencia temporal específica de involucramiento de áreas para que se altere la conciencia. Para comenzar con este análisis Figura 5.27 muestra la cantidad de electrodos involucrados en cada una de las 32 crisis durante los primeros 10, 20, 30, 40 y 50 s posteriores al inicio de las mismas.





**Figura 5.26: Detección de crisis en múltiple electrodos.** Ejemplos de la detección del momento en el cual los electrodos se involucran en la crisis epiléptica. La línea horizontal roja marca el inicio de la crisis determinada por un médico experto y la línea horizontal azul marca el fin de la crisis marcada por el mismo médico. Los diferentes colores representan distintos macroelectrodos implantados en el paciente. Los puntos negros indican los tiempos a los que el médico experto indica que cada electrodo se involucra en la crisis. El eje horizontal muestra los diferentes puntos de contacto de cada macroelectrodo, ordenados según la secuencia temporal correspondiente. El eje vertical indica el tiempo al cual el algoritmo detecta que el electrodo es reclutado en la crisis. (A) Crisis 6 Paciente 3. (B) Crisis 7 Paciente 2.



**Figura 5.27: Número de electrodos vs AOC.** Número total de electrodos involucrados en diferentes ventanas temporales luego del inicio de alteración de la conciencia vs valoración de la alteración de la conciencia. En diferentes colores se muestran los distintos pacientes analizados. La línea negra muestra el ajuste lineal, y la leyenda se muestra el valor de  $r$  que resulta de tal ajuste (o PCC). (A) 10s desde el inicio de la crisis. (B) 20s desde el inicio de la crisis. (C) 30s desde el inicio de la crisis. (D) 40s desde el inicio de la crisis. (E) 50s desde el inicio de la crisis.

Si bien existe correlación positiva, aunque despreciable en algunos casos, entre la alteración de la conciencia y el número de electrodos involucrados, no queda claro que el fenómeno pueda generalizarse para cada paciente. Los valores de alteración de conciencia se encuentran clusterizados en distintos pacientes, lo cual dificulta el análisis intrapaciente. Por otro lado, el máximo de correlación se alcanza recién a los 50s de iniciada la crisis, tiempo para el cual los médicos ya asumen, en general, que la crisis se ha generalizado (o propagado) a todo el cerebro.

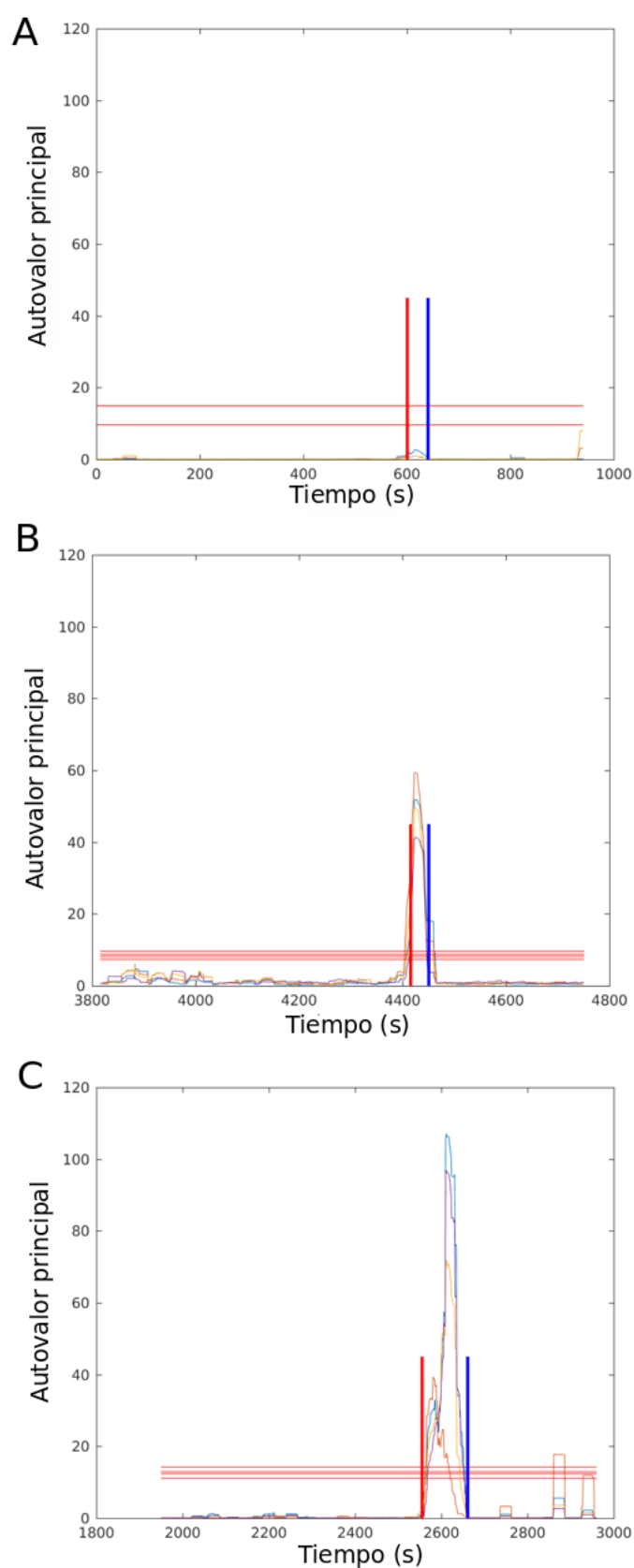
### 5.2.5. Análisis de simetrías y alteración de la conciencia

El análisis de simetrías en la distribución de probabilidad de potencia en bandas de frecuencia puede tener un fin en sí mismo, más allá de la detección automática de la crisis. En valor del autovalor principal que detecta la presencia de una asimetría se modifica entre diferentes crisis. La Figura 5.28 muestra dos ejemplos de autovalores principales en función del tiempo para los electrodos de inicio marcados por el médico en dos crisis con diferentes índice de pérdida de conciencia.

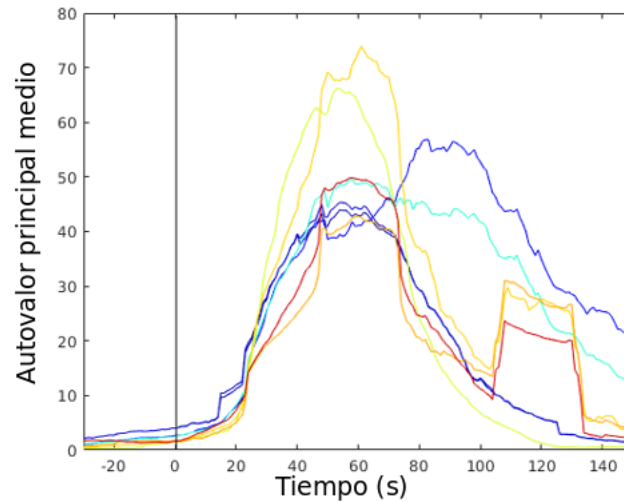
Como muestra la Figura 5.28, la intensidad de la componente principal se modifica en crisis con diferentes índices de pérdida de conciencia. La Figura 5.29 muestra los valores medios de los autovalores en el tiempo para los electrodos de inicio en múltiples crisis. En este caso se considera como cero el inicio (o  $t^*$ ) de cada contacto, y se los incorpora al promedio cuando se involucran en la crisis.

El degradé de colores de la Figura 5.29 combinado con el aumento progresivo en la altura de los picos de la Figura 5.28 sugiere que podría existir una correlación entre la intensidad de la asimetría que adquiere la distribución de probabilidad de potencia en bandas de frecuencia dentro de la crisis y la eventual alteración de la conciencia del paciente. Para presentar dos ejemplos, uno en el período inter-ictal y otro en el ictal, la Figura 5.30 muestra la correlación entre el autovalor máximo medio (obtenido de la Figura 5.29) en un tiempo previo al inicio de la crisis y un tiempo posterior al inicio. Al comparar 5.30.A con 5.30.B se observa que no sólo aumentan los valores del autovalor medio, sino también la correlación con los valores de AOC. La Figura 5.31 muestra el coeficiente de correlación de Pearson en el tiempo utilizando como el cero de tiempo (inicio ictal) dos condiciones diferentes: 5.31A toma como inicio el tiempo dado por el algoritmo de detección, y Figura 5.31B toma como inicio el proporcionado por el médico experto.

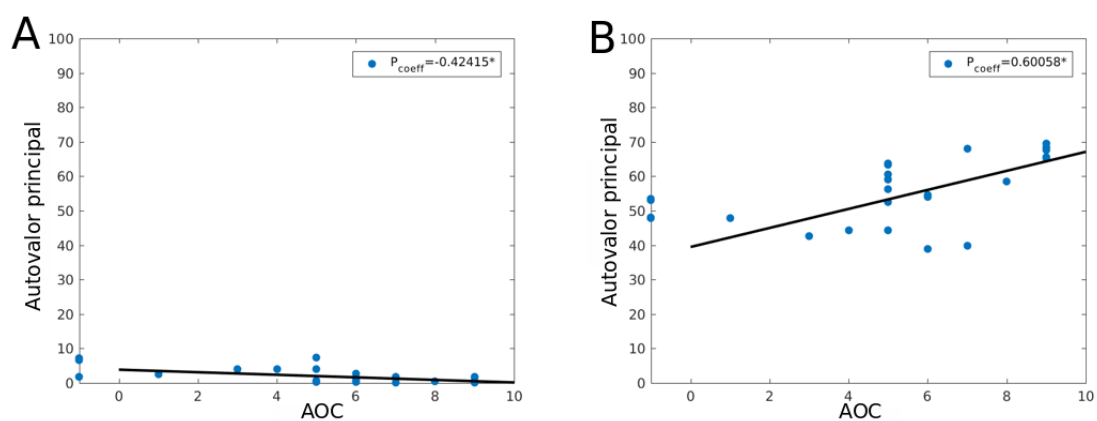
La Figura 5.31 muestra que, tanto utilizando la marca temporal del algoritmo como la marca del médico experto, se obtiene un pico de correlación positiva entre la intensidad de la asimetría en la distribución de probabilidad de potencia en banda y el índice de alteración de conciencia (AOC) aproximadamente 50s luego de iniciada la crisis. Por un lado, este resultado indica que el biomarcador seleccionado tiene relevancia



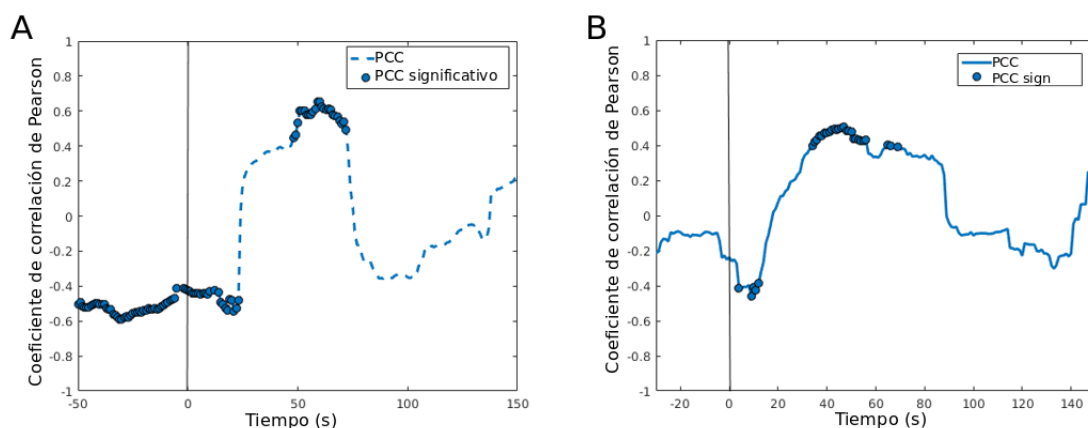
**Figura 5.28: Autovalores principales para distintos valores de AOC.** (A) AOC= 1. (B) AOC= 5. (C) AOC=6. Se muestra un ejemplo de crisis no detectada por el algoritmo (A) que corresponde a una crisis sin alteración de la conciencia. En diferentes colores se muestran los electrodos involucrados en el inicio de la crisis (marcados por el médico experto). Las líneas rojas horizontales corresponden a umbrales seleccionados para los distintos electrodos (recordar que el algoritmo se implementa electrodo por electrodo).



**Figura 5.29: Autovalor principal como función del tiempo.** Valor medio (tomado sobre todos los electrodos involucrados en el inicio de la crisis marcado por el médico experto) de los autovalores principales como función del tiempo para diferentes crisis de los cinco pacientes analizados. El código de colores muestra en azul las crisis con bajo índice de pérdida de conciencia y en rojo las crisis con alto índice de pérdida de conciencia.



**Figura 5.30: Correlación autovalor principal vs AOC.** Ejemplos para calcular la correlación en el tiempo entre el índice de alteración de la conciencia y el máximo autovalor obtenido con el análisis de covarianza para: (A) 0s (indica el momento de inicio detectado con el algoritmo) y (B) 52s (respecto al cero de la marca de inicio dada por el algoritmo). Se muestra el ajuste lineal, y el coeficiente de correlación de Pearson obtenido para el mismo ajuste.



**Figura 5.31: Evolución del PCC entre el AOC y el principal autovalor.** Análisis en el tiempo de la correlación entre el índice de alteración de la conciencia (AOC) con la intensidad de la asimetría en la distribución de probabilidad de potencia en bandas  $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . (A) El valor cero en el eje temporal indica la marca obtenida con el método automático de detección de crisis. (B) El valor cero en el eje temporal indica la marca proporcionada por el médico experto.

fisiológica y comportamental, ya que se correlaciona positivamente con la alteración de la conciencia. Sin embargo, aún resulta poco promisorio, ya que pasados los 50s del inicio ictal la crisis puede haberse propagado a todo el cerebro. Es destacable que con ambas marcas temporales se obtiene una correlación positiva entre la asimetría analizada y la alteración de la conciencia. Recordando que asimetría significa que la distribución de potencia en distintas bandas es no uniforme, esto indica que cuando hay mayor alteración de conciencia algunas bandas adquieren mayor relevancia sobre las otras (relevancia en el sentido de que sus fluctuaciones son mayores). Queda pendiente analizar cómo se comportan estas bandas, análisis que puede realizarse a partir del autovector principal proyectado al espacio original. Sin embargo, por presentar resultados poco concluyentes se dejó dicha exploración fuera de este trabajo.

### 5.3. Discusión

En este capítulo se presenta el estudio de las simetrías de las distribución de probabilidad de potencia en las bandas de frecuencia  $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . Dicho análisis muestra que un biomarcador basado en la covarianza de las señales en el espacio tiempo-frecuencia realizado electrodo por electrodo clasifica de manera adecuada (con un 85 % de precisión y un 79 % de exhaustividad) segmentos correspondientes a crisis epilépticas en pacientes hospitalarios con electrodos profundos, y una precisión temporal de 8s de demora al comparar la marca del algoritmo con la de un médico experto. A su vez, el clasificador binario en segmentos de 1s tiene una superposición con la clasificación real del 93 %. Nuestro algoritmo, a diferencia de otros métodos supervisados, no requiere una gran cantidad de datos anotados (con su correspondiente categoría) ni tampoco un arduo proceso de entrenamiento. Más aún, dado el proceso de normalización,

el mayor requerimiento consiste en la disponibilidad de un amplio conjunto de datos correspondientes al período inter-ictal.

Si bien existen múltiples algoritmos de detección de crisis epilépticas, el algoritmo aquí presentado no sólo detecta automáticamente las crisis sino que permite realizar un análisis cuantitativo de cuáles son las características relevantes que están siendo consideradas para realizar la detección, logrando así interpretabilidad de los resultados. Este análisis nos permite determinar, por ejemplo, que las variabilidades de la señal en la banda de frecuencia delta deben ser eliminadas del análisis de covarianza ya que introducen fluctuaciones que son del orden de magnitud las que se desean detectar en otras bandas de frecuencia al iniciarse el episodio epiléptico. El proceso de normalización o *whitening* nos permitió eliminar estas fluctuaciones y representar la señal total en un espacio donde los períodos inter-ictales forman una distribución de probabilidad esféricamente simétrica en el espacio de potencia de estas cinco bandas de frecuencia. Con tal normalización la distribución de probabilidad en el período ictal permanece asimétrica.

A su vez, al realizarse el estudio electrodo por electrodo es posible establecer una propagación espacio-temporal de la crisis. Dicha propagación puede correlacionarse (detectando tiempo a tiempo cuantos electrodos son clasificados como ictales) con el nivel de alteración de conciencia del paciente. Por otro lado, el nivel de asimetría asociado a cada crisis correlaciona de manera positiva con la valoración de la alteración de la conciencia propuesta por un médico experto a los 50s luego de iniciada la crisis.

Si bien muchas de las potencialidades de poder realizar este procedimiento no hay sido explotadas en este trabajo, y se requiere un análisis más detallado respecto a cantidad de electrodos involucrados en la crisis, cantidad de áreas, especificidad de áreas o bandas involucradas, este estudio presenta un antecedente relevante sobre la posibilidad de implementar algoritmos de clasificación no supervisados con pocos datos que permitan interpretabilidad de los resultados.





## 6

# Conclusiones

*“Begin at the beginning,” the King said gravely, “and go on till you come to the end: then stop.”*

– Lewis Carroll, *Alice in Wonderland*

A lo largo de este trabajo estudiamos la importancia del ritmo delta del potencial extracelular en la actividad cerebral en roedores y en humanos, y su vinculación con variables comportamentales. En el caso de los roedores, las áreas cerebrales analizadas están involucradas en tareas de memoria y navegación, y muchos (pero no todos) de los registros obtenidos en pacientes epilépticos contienen electrodos en estas mismas áreas.

En los experimentos con animales, utilizamos herramientas de teoría de la información para cuantificar el rol de diferentes mecanismos de codificación en la representación de atributos cinemáticos de la trayectoria, como son la posición, la velocidad, la dirección, etc. Hasta donde sabemos, esta es la primera vez que las herramientas de la teoría de la información se utilizan en un paradigma de navegación que incluye múltiples trayectorias con variables cinemáticas controladas e idénticas. Analizando los disparos de neuronas individuales, estudiamos la cantidad de información codificada en el código de tasa de disparo, y en la fase del potencial de campo filtrado en el ritmo theta en el momento en que se producen tales disparos. Estos códigos ya habían sido previamente reportados en la literatura, y fueron utilizados como referencia en la comparación con un nuevo código aquí propuesto, no estudiado anteriormente, basado en la fase del ritmo delta en los tiempos de disparo. El nuevo código transmite una cantidad de información y recluta una cantidad de neuronas que, si bien es menor a la de los códigos conocidos con anterioridad, es del mismo orden de magnitud. A diferencia de los otros códigos, la información en la fase de delta no puede asociarse fácilmente a un aspecto cinemático en particular (como la posición, o la velocidad), sino más bien, a conjunciones de atributos. Un análisis poblacional nos permitió concluir que la población de neuronas que codifica información por tasa de disparo es independiente de

aquella que utiliza códigos de fase. Sin embargo, las neuronas que codifican con la fase de theta tienden a coincidir con aquellas que utilizan la fase de delta, y la magnitud de la información codificada tiende a estar correlacionada. En parte, este resultado podría explicarse porque las banda theta y delta tienen un cierto grado de acoplamiento entre sí. Además, mostramos que con los códigos de fase, grupos de neuronas cercanas codifican la información cinemática de manera independiente, mientras que se observa una cierta correlación en la localización anatómica de las neuronas que codifican por tasa de disparo.

Así como las neuronas individuales codifican información cinemática, el potencial de campo también es modulado por atributos del comportamiento. En este contexto, analizamos las modulaciones por velocidad, aceleración y dirección del ritmo local delta, y su vinculación con el aprendizaje de tareas de navegación. En primer lugar, mostramos la existencia de una cantidad no despreciable de potencia en la banda delta en el sistema entorrinal, que no ha sido reportado o estudiado hasta el momento. Descubrimos que la amplitud de delta está anti-correlacionada con la velocidad de movimiento, y también que tiene un cierto grado de acoplamiento fase-amplitud con el ritmo theta, que es el predominante en tareas de navegación. Este acoplamiento depende de la velocidad y de la aceleración, pero no hemos encontrado evidencia de una modulación significativa de la dirección de movimiento del animal. Mostramos a su vez que el aprendizaje de la tarea es una componente clave en el desarrollo de la modulación del acoplamiento dependiente del comportamiento, particularmente, dependiente de la velocidad. Este estudio revaloriza la importancia funcional del ritmo delta, no sólo en la codificación sino también en el aprendizaje de tareas, particularmente tareas vinculadas a la navegación espacial. Esto motiva, para futuro, la realización de experimentos específicos que apunten a entender el rol funcional de delta dentro del sistema hipocampal-entorrinal, y su relación con otras áreas cerebrales donde ya ha sido estudiado.

Finalmente, estudiamos las componentes espectrales de las señales registradas con electrodos profundos en humanos, a fin de detectar crisis epilépticas de manera no supervisada. El algoritmo que desarrollamos está basado en el método de covarianza, y muestra que para detectar correctamente una crisis, es necesario normalizar la componente delta del potencial extracelular, debido a que su variabilidad intrínseca es del mismo orden que la variabilidad ocasionada por la crisis en otras bandas de frecuencia. Si nuestro algoritmo es utilizado con segmentos de 1 segundo, obtenemos una precisión del 93 % al comparar nuestra detección con la reportada por nuestras colaboradoras expertas en neurología clínica. La precisión de la detección es del 79 %, y la exhaustividad del 85 %. El análisis de covarianza permite también analizar las propiedades de simetría de la distribución de probabilidad de la potencia de las distintas bandas de frecuencia, lo que aporta interpretabilidad a los resultados. Verificamos que las asimetrías registradas aproximadamente 50 segundos posteriores al inicio de las crisis correlacionan

con el nivel de alteración de la conciencia. En comparación con otros métodos basados en machine learning, la ventaja de nuestro algoritmo no supervisado radica en la escasa cantidad de datos requeridos en la etapa de entrenamiento, la independencia de la existencia de datos ya clasificados (indispensables en el caso de aprendizaje supervisado), y principalmente, en la posibilidad de interpretar las características relevantes que deben ser eliminadas o tenidas en cuenta para realizar una buena clasificación, y para identificar correlatos fisiológicos con las variables comportamentales asociadas a la pérdida de la conciencia.

En definitiva, a lo largo de la tesis utilizamos múltiples técnicas de análisis de señales electrofisiológicas asociadas a eventos que tienen lugar a tres escalas espacio-temporales distintas. Los mecanismos de codificación de neuronas individuales ocurren a escalas del orden de decenas de micrones, y en tiempos del orden del milisegundo. Los ritmos colectivos emergentes que estudiamos en esta tesis tienen tiempos característicos que van desde los 50 ms al orden del segundo, manteniendo la coherencia en escalas espaciales que son del orden de las áreas cerebrales. Las crisis epilépticas típicamente duran uno o unos pocos minutos, y suelen involucrar varias áreas cerebrales, o incluso a veces, todo el cerebro. Por ende, aún cuando el ritmo delta tiene escalas espacio-temporales específicas, en la generación de comportamiento este ritmo interactúa con eventos fisiológicos que se manifiestan a muy diversas escalas, como es de esperarse en la emergencia de fenómenos complejos.



## Apéndice A

### Nombres de electodos y localización

Tabla A.1: Ubicación electrodos paciente 1

Índice	Contacto	Área	Hemisferio	Región
1	InA1	LT	Der	Corteza auditiva superior
2	InA2	LT	Der	Corteza insular inferior
3	InA3	LT	Der	Corteza insular anterioinferior
4	InA4	LT	Der	Corteza insular anterioinferior
5	InA5	LT	Der	Pars opercularis frontal
6	InA6	LT	Der	Pars opercularis frontal
7	InA7	LT	Der	Giro Frontal Inferior
8	InA8	LT	Der	Giro Frontal Inferior
9	InP1	LT	Der	Hipocampo
10	InP2	LT	Der	Hipocampos
11	InP3	LT	Der	Corteza insular superior
12	InP4	LT	Der	Corteza insular superior
13	InP5	LT	Der	Corteza insular superior
14	InP6	LT	Der	Corteza insular and Pars opercularis frontal
15	InP7	LF	Der	Corteza motora (Brodmann)
16	InP8	LF	Der	Corteza motora (Brodmann)
17	InP9	LF	Der	.
18	Ami1	LT	Der	Amigdala and Brainstem
19	Ami2	LT	Der	Amigdala anterior y corteza entorrinal
20	Ami3	LT	Der	Amigdala anterior y corteza entorrinal
21	Ami4	LT	Der	Amigdala anterior y corteza entorrinal
22	Ami5	LT	Der	Polo temporal (materia blanca)
23	Ami6	LT	Der	Polo temporal (materia blanca)
24	Ami7	LT	Der	Polo temporal (materia blanca)
25	Ami8	LT	Der	Polo temporal (T1-T2)
26	Ami9	LT	Der	.
27	HiC1	LT	Der	Ambient Cistern
28	HiC2	LT	Der	Ambient Cistern
29	HiC3	LT	Der	.
30	HiC4	LT	Der	.
31	HiC5	LT	Der	.
32	HiC6	LT	Der	.
33	HiC7	LT	Der	.
34	HiC8	LT	Der	.
35	HiC9	LT	Der	.
36	Hes1	LT	Der	Cabeza de hipocampo
37	Hes2	LT	Der	Hipocampo medio anterior
38	Hes3	LT	Der	Hes
39	Hes4	LT	Der	Hes
40	Hes5	LT	Der	Hes
41	Hes6	LT	Der	Giro temporal (T1-T2)
42	Hes7	LT	Der	Giro temporal (T1-T2)
43	Hes8	LT	Der	Polo temporal y T2
44	Hes9	LT	Der	,Polo temporal y T2

**Tabla A.2:** Ubicación electrodos paciente 2

Índice	Contacto	Área	Hemisferio	Región
1	CiA1	LF	Izq	Corteza cingulada anterior
2	CiA2	LF	Izq	Corteza cingulada anterior
3	CiA3	LF	Izq	Corteza cingulada anterior
4	CiA4	LF	Izq	Giro frontal medio (F2)
5	CiA5	LF	Izq	Giro frontal medio (F2)
6	CiA6	LF	Izq	Giro frontal medio (F2)
7	CiA7	LF	Izq	Giro frontal medio (F2)
8	CiA8	LF	Izq	Giro frontal medio (F2)
9	CiA9	LF	Izq	.
10	CiP1	LF	Izq	Materia blanca
11	CiP2	LF	Izq	Materia blanca, Giro Der
12	CiP3	LF	Izq	Materia blanca, Corteza orbitofrontal lateral
13	CiP4	LF	Izq	Corteza orbitofrontal lateral
14	CiP5	LF	Izq	Corteza orbitofrontal lateral
15	CiP6	LF	Izq	Giro frontal inferior
16	CiP7	LF	Izq	Giro frontal inferior
17	CiP8	LF	Izq	.
18	CiP9	LF	Izq	.
19	GRS1	LF	Izq	Giro frontal superior
20	GRS2	LF	Izq	Giro frontal superior y Corteza orbitofrontal media
21	GRS3	LF	Izq	Corteza orbitofrontal media
22	GRS4	LF	Izq	Giro medio frontal(F2)
23	GRS5	LF	Izq	Giro medio frontal(F2)
24	GRS6	LF	Izq	Giro medio frontal(F2)
25	GRS7	LF	Izq	Giro medio frontal(F2)
26	GRS8	LF	Izq	Giro medio frontal(F2)
27	GRS9	LF	Izq	Giro medio frontal(F2)
28	HCu1	LT	Izq	Hipocampo superior y ventrículo lateral
29	HCu2	LT	Izq	Corteza insular superior
30	HCu3	LT	Izq	Superior
31	HCu4	LT	Izq	Medio (T2)
32	HCu5	LT	Izq	Medio
33	HCu6	LT	Izq	Medio
34	HCu7	LT	Izq	Medio
35	HCu8	LT	Izq	
36	HCu9	LT	Izq	
37	HCz1	LT	Izq	Cabeza media de hipocampo
38	HCz2	LT	Izq	Cabeza media de hipocampo
39	HCz3	LT	Izq	Giro fusiforme inferior y superior
40	HCz4	LT	Izq	Giro fusiforme inferior y superior
41	HCz5	LT	Izq	Medio (T2)
42	HCz6	LT	Izq	Medio (T2)
43	HCz7	LT	Izq	Medio (T2)
44	HCz8	LT	Izq	.
45	HCz9	LT	Izq	.

**Tabla A.3:** Ubicación electrodos paciente 3.1

Índice	Contacto	Área	Hemisferio	Región
1	AmI1	LT	Izq	Amígdala anterior superior
2	AmI2	LT	Izq	Amígdala anterior superior
3	AmI3	LT	Izq	Corteza insular anterior media
4	AmI4	LT	Izq	Corteza insular anterior (MB)
5	AmI5	LT	Izq	Corteza insular anterior inferior (MB)
6	AmI6	LT	Izq	Sulcus Lateral
7	AmI7	LT	Izq	Corteza superior
8	AmI8	LT	Izq	Corteza superior
9	AmI9	LT	Izq	
10	HkI1	LT	Izq	Cabeza de hipocampo
11	HkI2	LT	Izq	Cabeza de hipocampo
12	HkI3	LT	Izq	Corteza insular (MB)
13	HkI4	LT	Izq	Corteza superior (MB)
14	HkI5	LT	Izq	Corteza superior (MB)
15	HkI6	LT	Izq	Corteza superior
16	HkI7	LT	Izq	Corteza superior
17	HkI8	LT	Izq	.
18	HkI9	LT	Izq	.
19	HqI1	LT	Izq	Cuerpo de hipocampo
20	HqI2	LT	Izq	Cuerpo de hipocampo
21	HqI3	LT	Izq	Giro fusiforme (MB)
22	HqI4	LT	Izq	Materia Blanca media
23	HqI5	LT	Izq	Materia Blanca media
24	HqI6	LT	Izq	Materia Blanca media
25	HqI7	LT	Izq	Materia Blanca media
26	HqI8	LT	Izq	
27	HqI9	LT	Izq	
28	AmD1	LT	Der	Amígdala
29	AmD2	LT	Der	Amígdala
30	AmD3	LT	Der	Corteza insular anterior inferior
31	AmD4	LT	Der	Corteza insular anterior inferior(MB)
32	AmD5	LT	Der	Corteza superior
33	AmD6	LT	Der	Corteza superior (MB)
34	AmD7	LT	Der	Corteza superior
35	AmD8	LT	Der	
36	AmD9	LT	Der	
37	HkD1	LT	Der	Cabeza de hipocampo
38	HkD2	LT	Der	Cabeza de hipocampo
39	HkD3	LT	Der	Corteza insular (MB)



**Tabla A.4:** Ubicación electrodos paciente 3.2

Índice	Contacto	Área	Hemisferio	Región
40	HkD4	LT	Der	Corteza superior (MB)
41	HkD5	LT	Der	Corteza superior
42	HkD6	LT	Der	Corteza superior
43	HkD7	LT	Der	Corteza media
44	HkD8	LT	Der	.
45	HkD9	LT	Der	.
46	HqD1	LT	Der	Cuerpo de hipocampo
47	HqD2	LT	Der	Cuerpo de hipocampo
48	HqD3	LT	Der	Corteza y giro fusiforme(MB)
49	HqD4	LT	Der	Materia blanca media
50	HqD5	LT	Der	Materia blanca media
51	HqD6	LT	Der	Corteza media
52	HqD7	LT	Der	Corteza media
53	HqD8	LT	Der	.
54	HqD9	LT	Der	.

**Tabla A.5:** Ubicación electrodos paciente 4.1

Índice	Contacto	Área	Hemisferio	Región
1	AmD1	LT	Der	Amigdala
2	AmD2	LT	Der	Amigdala
3	AmD3	LT	Der	Corteza insular
4	AmD4	LT	Der	Corteza superior (MB)
5	AmD5	LT	Der	Corteza superior (MB)
6	AmD6	LT	Der	Corteza superior (MB)
7	AmD7	LT	Der	Corteza superior (MB)
8	AmD8	LT	Der	.
9	AmD9	LT	Der	.
10	HkD1	LT	Der	Cabeza de hipocampo
11	HkD2	LT	Der	Cabeza de hipocampo
12	HkD3	LT	Der	Hipocampo y giro fusiforme
13	HkD4	LT	Der	Corteza media (MB)
14	HkD5	LT	Der	Corteza media (MB)
15	HkD6	LT	Der	Corteza media (MB)
16	HkD7	LT	Der	Corteza media (MB)
17	HkD8	LT	Der	.
18	HkD9	LT	Der	.
19	HqD1	LT	Der	Cuerpo de hipocampo
20	HqD2	LT	Der	Cuerpo de hipocampo
21	HqD3	LT	Der	Corteza media
22	HqD4	LT	Der	Corteza media (MB)
23	HqD5	LT	Der	Corteza media (MB)
24	HqD6	LT	Der	Corteza media (MB)
25	HqD7	LT	Der	Corteza media (MB)
26	HqD8	LT	Der	.
27	HqD9	LT	Der	.
28	AmI1	LT	Izq	Cabeza de hipocampo
29	AmI2	LT	Izq	Cabeza de hipocampo
30	AmI3	LT	Izq	Amigdala
31	AmI4	LT	Izq	Amigdala y corteza insular
32	AmI5	LT	Izq	Corteza superior (MB)
33	AmI6	LT	Izq	Corteza superior (MB)
34	AmI7	LT	Izq	Corteza superior (MB)
35	AmI8	LT	Izq	.
36	AmI9	LT	Izq	.
37	HkI1	LT	Izq	Cabeza de hipocampo
38	HkI2	LT	Izq	Cabeza de hipocampo
39	HkI3	LT	Izq	Hipocampo y giro fusiforme
40	HkI4	LT	Izq	Corteza media y materia blanca

**Tabla A.6:** Ubicación electrodos paciente 4.2

Índice	Contacto	Área	Hemisferio	Región
41	HkI5	LT	Izq	Corteza media (MB)
42	HkI6	LT	Izq	Corteza media (MB)
43	HkI7	LT	Izq	Corteza media (MB)
44	HkI8	LT	Izq	.
45	HkI9	LT	Izq	.
46	HqI1	LT	Izq	Cuerpo de hipocampo
47	HqI2	LT	Izq	Cuerpo de hipocampo
48	HqI3	LT	Izq	Giro fusiforme
49	HqI4	LT	Izq	Corteza media (MB)
50	HqI5	LT	Izq	Corteza media (MB)
51	HqI6	LT	Izq	Corteza media (MB)
52	HqI7	LT	Izq	Corteza media (MB)
53	HqI8	LT	Izq	.
54	HqI9	LT	Izq	.

**Tabla A.7:** Ubicación electrodos paciente 5

Índice	Contacto	Área	Hemisferio	Región
1	LPr1	LT	Izq	Materia blanca
2	LPr2	LT	Izq	Materia blanca
3	LPr3	LT	Izq	Giro frontal medio (MB)
4	LPr4	LT	Izq	Giro frontal medio (MB)
5	LPr5	LT	Izq	Giro frontal medio (MB)
6	LPr6	LT	Izq	Giro frontal medio (MB)
7	LPr7	LT	Izq	Giro frontal medio (MB)
8	Hca1	LT	Izq	Cabeza de hipocampo
9	Hca2	LT	Izq	Cabeza de hipocampo
10	Hca3	LT	Izq	Materia blanca superior
11	Hca4	LT	Izq	Materia blanca superior
12	Hca5	LT	Izq	Corteza superior
13	Hca6	LT	Izq	Corteza media
14	Hca7	LT	Izq	Corteza media
15	LPo4	LT	Izq	Caudate
16	LPo5	LT	Izq	Caudate
17	LPo6	LT	Izq	Caudate
18	LPo7	LT	Izq	Materia blanca
19	LPo8	LT	Izq	Materia blanca
20	LPo9	LT	Izq	Materia blanca
21	LPo10	LT	Izq	Materia blanca
22	GiPo1	LP	Izq	Giro postcentral (MB)
23	GiPo2	LP	Izq	Giro postcentral (MB)
24	GiPo3	LP	Izq	Corteza del giro postcentral
25	GiPo4	LP	Izq	Corteza del giro postcentral
26	Hes1	LT	Izq	Cuerpo de hipocampo
27	Hes2	LT	Izq	Cuerpo de hipocampo
28	Hes3	LT	Izq	Materia blanca superior
29	Hes4	LT	Izq	Materia blanca superior
30	Hes5	LT	Izq	Materia blanca superior
31	Hes6	LT	Izq	Corteza superior
32	Hes7	LT	Izq	Corteza superior
33	GiPr1	LT	Izq	Corteza insular (MB)
34	GiPr2	LT	Izq	Giro precentral (MB)
35	GiPr3	LT	Izq	Giro precentral (MB)
36	GiPr4	LT	Izq	Giro precentral (MB)
37	GiPr5	LT	Izq	Corteza del giro precentral
38	GiPr6	LP	Izq	Corteza del giro postcentral
39	GiPr7	LP	Izq	Corteza del giro postcentral

## Apéndice B

### Combinaciones para códigos

**Tabla B.1:** Combinaciones posibles de codificación celular para múltiples atributos:1

Atributos	Tiempo	Posición	Dirección	Velocidad	PosDir	VelDir
6	1	1	1	1	1	1
5	0	1	1	1	1	1
5	1	0	1	1	1	1
5	1	1	0	1	1	1
5	1	1	1	0	1	1
5	1	1	1	1	0	1
5	1	1	1	1	1	0
4	0	0	1	1	1	1
4	0	1	0	1	1	1
4	0	1	1	0	1	1
4	0	1	1	1	0	1
4	0	1	1	1	1	0
4	1	0	0	1	1	1
4	1	0	1	0	1	1
4	1	0	1	1	0	1
4	1	0	1	1	1	0
4	1	1	0	0	1	1
4	1	1	0	1	0	1
4	1	1	0	1	1	0
4	1	1	1	0	0	1
4	1	1	1	0	1	0
4	1	1	1	1	0	0
3	0	0	0	1	1	1
3	0	0	1	0	1	1
3	0	0	1	1	0	1
3	0	0	1	1	1	0
3	0	1	0	0	1	1
3	0	1	0	1	0	1
3	0	1	0	1	1	0
3	0	1	1	0	0	1
3	0	1	1	0	1	0
3	0	1	1	1	0	0
3	1	0	0	0	1	1
3	1	0	0	1	0	1
3	1	0	0	1	1	0
3	1	0	1	0	0	1
3	1	0	1	0	1	0
3	1	0	1	1	0	0
3	1	1	0	0	0	1
3	1	1	0	0	1	0
3	1	1	0	1	0	0
3	1	1	1	0	0	0

**Tabla B.2:** Combinaciones posibles de codificación celular para múltiples atributos:2

Atributos	Tiempo	Posición	Dirección	Velocidad	PosDir	VelDir
2	0	0	0	0	1	1
2	0	0	0	1	0	1
2	0	0	0	1	1	0
2	0	0	1	0	0	1
2	0	0	1	0	1	0
2	0	0	1	1	0	0
2	0	1	0	0	0	1
2	0	1	0	0	1	0
2	0	1	0	1	0	0
2	0	1	1	0	0	0
2	1	0	0	0	0	1
2	1	0	0	0	1	0
2	1	0	0	1	0	0
2	1	0	1	0	0	0
2	1	1	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	1
1	0	0	0	0	1	0
1	0	0	0	1	0	0
1	0	0	1	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0
1	1	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0

**Tabla B.3:** Combinaciones posibles de codificación conjunta de con múltiples mecanismos.

Códigos	Tasa de disparos	Fase en delta	Fase en theta
3	1	1	1
2	1	1	0
2	1	0	1
2	0	1	1
1	1	0	0
1	0	1	0
1	0	0	1
0	0	0	0





# Bibliografía

- [1] Smith, K. Cognitive psychology: Mind and brain. *New Jersey: Prentice Hall.*, **21**, 194–199, 2017.
- [2] Zhang, X.-M., Zhu1, J. Kainic acid-induced neurotoxicity: Targeting glial responses and glia-derived cytokines. *Current Neuropharmacology*, **9**, 388–398, 2011.
- [3] Rolls, E., Treves, A. Neural networks and brain function, 01 1998.
- [4] E.T., R., A., T. Neural networks in the brain involved in memory and recall. *Proceedings of 1993 International Joint Conference on Neural Networks*, 1993.
- [5] Rolls, E. T. A computational theory of episodic memory formation in the hippocampus. *Behavioural Brain Research*, **215** (2), 180 – 196, 2010. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432810002135>, special issue on episodic memory.
- [6] Tsao, A., Sugar, J., Lu, L., Wang, C., Knierim, J. J., Moser, M.-B., *et al.* Integrating time from experience in the lateral entorhinal cortex. *Nature*, **57**, 2018.
- [7] O’Keefe, J., Dostrovsky, J. The hippocampus as a spatial map. preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, **34** (1), 171–175, 1971.
- [8] Colgin, L. L., Moser, E. I., Moser, M.-B. Understanding memory through hippocampal remapping. *Trends in Neurosciences*, **31** (9), 469 – 477, 2008. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166223608001677>.
- [9] Fyhn, M., Molden, S., Witter, M. P., Moser, E., Moser, M.-B. Spatial representation in the entorhinal cortex. *Science*, **305** (5688), 1258–1264, 2004.
- [10] Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature*, **436**, 801806.
- [11] Fyhn, M., Hafting, T., Treves, A., Moser, M.-B., Moser, E. I. Hippocampal remapping and grid realignment in entorhinal cortex. *Nature*, **446** (9), 469 – 477, 2007.

- [12] Jacobs, J. Hippocampal theta oscillations are slower in humans than in rodents: implications for models of spatial navigation and memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **369** (1635), 2014. URL <http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/369/1635/20130304>.
- [13] Buzski, G. Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*, **33** (3), 325 – 340, 2002. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S089662730200586X>.
- [14] Buzsáki, G., Moser, E. I. Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nature Neuroscience*, **16**, 130–138, 2013.
- [15] O’Keefe, J. Hippocampues, theta, and spatial memory. *Current Opinion in Neurobiology*, **6** (3), 917–924, 1993.
- [16] Hafting, T., Fyhn, M., Bonnevie, T., Moser, M.-B., Moser, E. I. Hippocampus-independent phase precession in entorhinal grid cells. *Nature*, **453**, 2008.
- [17] Solstad, T., Boccara, C. N., Kropff, E., Moser, M.-B., Moser, E. I. Representation of geometric borders in the entorhinal cortex. *Science*, **322** (5909), 1865–1868, 2008.
- [18] Muller, R. U., Bostock, E., Taube, J. S., Kubie, J. L. On the directional firing properties of hippocampal place cells. *Annual Review of Neuroscience*, **14** (12), 7235–7251, 1994.
- [19] Battaglia, F. P., Sutherland, G. R., McNaughton, B. L. Local sensory cues and place cell directionality: Additional evidence of prospective coding in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, **24** (19), 45414550, 2004.
- [20] Kropff, E., Carmichael, J. E., Moser, M.-B., Moser, E. I. Speed cells in the medial entorhinal cortex. *Nature*, **523** (7561), 419–424, 2015.
- [21] McNaughton, B. L., Battaglia, F. P., Jensen, O., Moser, E. I., Moser, M.-B. Path integration and the neural basis of the cognitive map. *Nature Review Artivle*, **7**, 2008.
- [22] Moser, E. I., Kropff, E., Moser, M.-B. Place cells, grid cells, and the brain’s spatial representation system. *Annual Review of Neuroscience*, **31** (1), 69–89, 2008. PMID: 18284371.
- [23] Clark, B., Taube, J. Vestibular and attractor network basis of the head direction cell signal in subcortical circuits. *Frontiers in Neural Circuits*, **6**, 7, 2012. URL <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncir.2012.00007>.

- [24] Scheffer, I. E., French, J., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G. W., Mosh, S. L., *et al.* Classification of the epilepsies: New concepts for discussion and debatespecial report of the ilae classification task force of the commission for classification and terminology. *Epilepsia Open*, **1** (1-2), 37–44, 2016. URL <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/epi4.5>.
- [25] HeinzGregor, W. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis epilepsy. *Commission on Neurosurgery of Epilepsy*, **45**, 695–714, 2004.
- [26] Kuzniecky, R. I., Bilir, E., Gilliam, F., Faught, E., Palmer, C., Morawetz, R., *et al.* Multimodality mri in mesial temporal sclerosis: Relative sensitivity and specificity. *Neurology*, **49** (3), 774–778, 1997. URL <http://n.neurology.org/content/49/3/774>.
- [27] D, C., M, K., S, O., R, R., S., K. Alteraciones extrahipocámpicas en epilepsia temporal mesial con esclerosis del hipocampo. **4**, 53–58, 2012.
- [28] Bonilha, L., Kobayashi, E., Rorden, C., Cendes, F., Li, L. M. Medial temporal lobe atrophy in patients with refractory temporal lobe epilepsy. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, **74** (12), 1627–1630, 2003. URL <https://jnnp.bmj.com/content/74/12/1627>.
- [29] Bernasconi, N., Bernasconi, A., Caramanos, Z., Antel, S., Andermann, F., Arnold, D. Mesial temporal damage in temporal lobe epilepsy: A volumetric mri study of the hippocampus, amygdala and parahippocampal region. *Brain : a journal of neurology.*, **126**, 462–469, 2003.
- [30] Bartolomei, F., McGonigal, A., Naccache, L. Alteration of consciousness in focal epilepsy: The global workspace alteration theory. *Epilepsy Behavior*, **30**, 17 – 23, 2014. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1525505013004782>, alterations of Consciousness in Epilepsy.
- [31] Nani, A., Cavanna, A. E. The quantitative measurement of consciousness during epileptic seizures. *Epilepsy Behavior*, **30**, 2 – 5, 2014. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S152550501300468X>, alterations of Consciousness in Epilepsy.
- [32] Blumenfeld, H. Chapter 16 - epilepsy and consciousness. En: S. Laureys, O. Gosseries, G. Tononi (eds.) *The Neurology of Consciousness (Second Edition)*, second edition ed<sup>ón</sup>, págs. 255 – 270. San Diego: Academic Press, 2016. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128009482000169>.

- [33] Arthuis, M., Valton, L., Rgis, J., Chauvel, P., Wendling, F., Naccache, L., *et al.* Impaired consciousness during temporal lobe seizures is related to increased long-distance corticocortical synchronization. *Brain*, **132** (8), 2091–2101, 2009. URL <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awp086>.
- [34] Bartolomei, F. Coherent neural activity and brain synchronization during. *Archives italiennes de biologie: A journal of neuroscience*, **150**, 2012.
- [35] Skaggs, W. E., McNaughton, B. L., Gothard, K. M., Markus, E. J. An information-theoretic approach to deciphering the hippocampal code, cap. 5, págs. 1030–1037. Morgan Kaufmann Pub., 1993.
- [36] Dayan, P., Abbott, L. F. Theoretical Neuroscience. Cambridge, Massachusetts: The MIT Press, 2001.
- [37] Souza, B. C., Pavo, R., Belchior, H., Tort, A. B. L. On information metrics for spatial coding. *Neuroscience*, **375**, 62–73, 2018.
- [38] Rieke, F., Warland, D., de Ruyter van Steveninck, R., Bialek, W. Spikes: Exploring the Neural Code. Cambridge, Massachusetts: The MIT Press, 1999.
- [39] Hubel, D. H. David h. hubel’s nobel lecture. evolution of ideas on the primary visual cortex, 1955-1978: A biased historical account. En: T. Frangsmyr, J. Lindsten (eds.) Nobel Lectures, Physiology or Medicine: 1981-1990, cap. 1981, págs. 24–56. Singapore: World Scientific Publishing Co., 1993.
- [40] Gross, C. G., Rocha-Miranda, C. E., Bender, D. B. Visual properties of neurons in inferotemporal cortex of the macaque. *Journal of Neurophysiology*, **35** (7199), 96,111, 1972.
- [41] O’Keefe, J. John o’keefe - nobel lecture: Spatial cells in the hippocampal formation. [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/2014/okeefe-lecture.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2014/okeefe-lecture.html), 2014. Last checked: 2018-05-22.
- [42] Chichilnisky, E. J. A simple white noise analysis of neuronal light responses. *Network: Computation in Neural Systems*, **12** (2), 199–213, 2006.
- [43] Samengo, I., Gollisch, T. Spike-triggered covariance revisited: Geometric proof, symmetry properties and extension beyond gaussian stimuli. *Journal of Computational Neuroscience*, **34** (1), 137–61, 2013.
- [44] Rust, N. C., Schwartz, O., Movshon, J. A., Simoncelli, E. P. Spatiotemporal elements of macaque v1 receptive fields. *Neuron*, **46** (9), 945–956, 2005.

- [45] Estebanez, L., Bertherat, J., Shulz, D. E., Bourdieu, L., Léger, J. F. A radial map of multi-whisker correlation selectivity in the rat barrel cortex. *Nature Communications*, **17**, 13528, 2016.
- [46] Strong, S. P., Koberle, R., de Ruyter van Steveninck, R. R., Bialek, W. Entropy and information in neural spike train. *Physical Review Letters*, **80** (1), 197–200, 1998.
- [47] Hardcastle, K., Maheswaranathan, N., Ganguli, S., Giocomo, L. M. A multiplexed, heterogeneous, and adaptive code for navigation in medial entorhinal cortex. *Neuron*, **94** (2), 375–387, 2017.
- [48] Diehl, G. W., Hon, O. J., Leutgeb, S., Leutgeb, J. K. Grid and nongrid cells in medial entorhinal cortex represent spatial location and environmental features with complementary coding schemes. *Neuron*, **94** (1), 83–92, 2017.
- [49] Fisher, N. I. Statistical Analysis of Circular Data. New York: Cambridge University Press, 1996.
- [50] Shannon, C. E. A mathematical theory of communication. *Bell Systems Technical Journal*, **27**, 623–656, 1948.
- [51] Cover, T. M., Thomas, J. A. Elements of Information Theory. Wiley-Interscience, 2006.
- [52] Ecker, A. S., Berens, P., Tolias, A. S., Bethge, M. The effect of noise correlations in populations of diversely tuned neurons. *Journal of Neuroscience*, **31** (40), 14272–14283, 2011.
- [53] Mathis, A., Herz, A. V. M., Stemmler, M. B. Multiscale codes in the nervous system: The problem of noise correlations and the ambiguity of periodic scales. *Physical Review E*, **88**, 022713, 2013.
- [54] Butts, D. A., Goldman, M. S. Tuning curves, neuronal variability and sensory coding. *PLoS Biology*, **4** (4), 2006.
- [55] Treves, A., Panzeri, S. The upward bias in measures of information derived from limited data samples. *Neural Computation*, **7** (2), 399–407, 1995.
- [56] Samengo, I. Estimating probabilities from experimental frequencies. *Physical Review E*, **65** (4), 046124, 2002.
- [57] Paninski, L. Estimation of entropy and mutual information. *Neural Computation*, **15** (6), 1191–1253, 2003.

- [58] Panzeri, S., Senatore, R., Montemurro, M. A., Petersen, R. S. Correcting for the sampling bias problem in spike train information measures. *Journal of Neurophysiology*, **98** (3), 1064–1072, 2007.
- [59] Brenner, N., Strong, S. P., Koberle, R., Bialek, W., de Ruyter van Steveninck, R. R. Synergy in a neural code. *Neural Computation*, **12** (7), 1531–1552, 2000.
- [60] Schneidman, E., Berry II, M. J., Segev, R., Bialek, W. Weak pairwise correlations imply strongly correlated network states in a neural population. *Nature*, **440**, 2006.
- [61] Gawne, T. J., Richmond, B. J. How independent are the messages carried by adjacent inferior temporal cortical neurons? *The Journal of Neuroscience*, **13** (7), 2758–2771, 1993.
- [62] Schneidman, E., Bialek, W., Berry, M. J. Synergy, redundancy, and independence in population codes. *The Journal of Neuroscience*, **23** (37), 11539–11553, 2003.
- [63] Montemurro, M. A., Rasch, M. J., Murayama, Y., Logothetis, N. K., Panzeri, S. Phase-of-firing coding of natural visual stimuli in primary visual cortex. *Current Biology*, **18** (5), 375–380, 2008.
- [64] Kayser, C., Montemurro, M. A., Logothetis, N., Panzeri, S. Spike-phase coding boosts and stabilizes information carried by spatial and temporal spike patterns. *Neuron*, **61** (4), 597–608, 2009.
- [65] Samengo, I. The information loss in an optimal maximum likelihood decoding. *Neural Computation*, **14** (4), 771–779, 2002.
- [66] Elijah, D., Samengo, I., Montemurro, M. A. Thalamic neurons encode stimulus information by burst-size modulation. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 2017.
- [67] Constantinou, M., Gonzalo Cogno, S., Elijah, D. A., Kropff, E., Gigg, J., Samengo, I., *et al.* Bursting neurons in the hippocampal formation encode features of lfp rhythms. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 2016.
- [68] Buzsáki, G., Buhl, D. L., Harris, K. D., Csicsvari, J., Czeh, B., Morozov, A. Tuning curves, neuronal variability and sensory coding. *Neuroscience*, **116** (1), 201–211, 2003.
- [69] Bieri, K. W., Bobbitt, K. N., Colgin, L. L. Slow and fast gamma rhythms coordinate different spatial coding modes in hippocampal place cells. *Neuron*, **82** (3), 670 – 681, 2014. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627314002414>.

- [70] Fries, P. Rhythms for cognition: Communication through coherence. *Neuron*, **88** (1), 220 – 235, 2015. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627315008235>.
- [71] Varela, F., Lachaux, J.-P., Rodriguez, E., Martinerie, J. The brainweb: Phase synchronization and large-scale integration. *Nature Reviews Neuroscience*, **2** (229), 2001.
- [72] von Stein A., J., S. Different frequencies for different scales of cortical integration: from local gamma to long range alpha/theta synchronization. *Journal of Psychophysiology*, **38** (3), 2000.
- [73] Belluscio, M. A., Mizuseki, K., Schmidt, R., Kempter, R., Buzsáki, G. Cross-frequency phase–phase coupling between theta and gamma oscillations in the hippocampus. *Journal of Neuroscience*, **32** (2), 423–435, 2012. URL <http://www.jneurosci.org/content/32/2/423>.
- [74] Fell, J., Axmacher, N. The role of phase synchronization in memory processes. *Nature Reviews Neuroscience*, **12** (105), 423–435, 2011. URL <http://www.jneurosci.org/content/32/2/423>.
- [75] Jensen, O., Colgin, L. L. Cross-frequency coupling between neuronal oscillations. *Trends in Cognitive Sciences*, **11** (7), 267 – 269, 2007. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364661307001271>.
- [76] Colgin, L. L. Oscillations and hippocampalprefrontal synchrony. *Current Opinion in Neurobiology*, **21** (3), 467 – 474, 2011. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095943881100064X>, behavioural and cognitive neuroscience.
- [77] Ahmed, O. J., Mehta, M. R. Running speed alters the frequency of hippocampal gamma oscillations. *Journal of Neuroscience*, **32** (21), 7373–7383, 2012. URL <http://www.jneurosci.org/content/32/21/7373>.
- [78] Zheng, C., Bieri, K. W., Trettel, S. G., Colgin, L. L. The relationship between gamma frequency and running speed differs for slow and fast gamma rhythms in freely behaving rats. *Hippocampus*, **25** (8), 924–938. URL <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/hipo.22415>.
- [79] Zheng, C., Bieri, K. W., Hwaun, E., Colgin, L. L. Fast gamma rhythms in the hippocampus promote encoding of novel object–place pairings. *Neuron*, **3** (2), 2016. URL <http://www.eneuro.org/content/3/2/ENEURO.0001-16.2016>.

- [80] Chen, Z., Resnik, E., McFarland, J. M., Sakmann, B., Mehta, M. R. Speed controls the amplitude and timing of the hippocampal gamma rhythm. *PLOS ONE*, **6** (6), 1–9, 06 2011. URL <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021408>.
- [81] Tort, A. B. L., Kramer, M. A., Thorn, C., Gibson, D. J., Kubota, Y., Graybiel, A. M., *et al.* Dynamic cross-frequency couplings of local field potential oscillations in rat striatum and hippocampus during performance of a t-maze task. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008. URL <http://www.pnas.org/content/early/2008/12/12/0810524105>.
- [82] Tort, A. B. L., Komorowski, R. W., Manns, J. R., Kopell, N. J., Eichenbaum, H. Theta–gamma coupling increases during the learning of item–context associations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **106** (49), 20942–20947, 2009. URL <http://www.pnas.org/content/106/49/20942>.
- [83] Fujisawa, S., Buzski, G. A 4 hz oscillation adaptively synchronizes prefrontal, vta, and hippocampal activities. *Neuron*, **72** (1), 153 – 165, 2011. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627311007392>.
- [84] Roy, A., Svensson, F. P., Mazeh, A., Kocsis, B. Prefrontal-hippocampal coupling by theta rhythm and by 2–5 hz oscillation in the delta band: The role of the nucleus reuniens of the thalamus. *Brain Structure and Function*, **222** (6), 2819–2830, Aug 2017. URL <https://doi.org/10.1007/s00429-017-1374-6>.
- [85] Miller, E. K., Cohen, J. D. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annual Review of Neuroscience*, **24** (1), 167–202, 2001. URL <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.167>, PMID: 11283309.
- [86] Nácher, V., Ledberg, A., Deco, G., Romo, R. Coherent delta-band oscillations between cortical areas correlate with decision making. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **110** (37), 15085–15090, 2013. URL <http://www.pnas.org/content/110/37/15085>.
- [87] Harmony, T. The functional significance of delta oscillations in cognitive processing. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, **7**, 83, 2013. URL <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnint.2013.00083>.
- [88] Ito, H. T., Zhang, S.-J., Witter, M.-B., Menno P. Moser, Moser, E. I. A prefrontalthalamohippocampal circuit for goal-directed spatial navigation. *Nature*, **522** (50), 2015.



- [89] W.L., M. F., H., T., K., H. E. Relationship between hippocampal theta activity and running speed in the rat. *En: Relationship between hippocampal theta activity and running speed in the rat*, tomo 0, pág. 3. University of Maryland, 1974.
- [90] Bender, F., Gorbati, M., Cadavieco, M. C., Denisova, N., Gao, X., Holman, C., *et al.* Theta oscillations regulate the speed of locomotion via a hippocampus to lateral septum pathway. *Nature Communications*, **6** (8521), 2015. URL <https://www.nature.com/articles/ncomms9521#supplementary-information>.
- [91] Sheremet, A., Burke, S., Maurer, A. Movement enhances the nonlinearity of hippocampal theta. **36**, 4218–4230, 04 2016.
- [92] Colgin, L. L. Thetgamma coupling in the entorhinalhippocampal system. *Current Opinion in Neurobiology*, **31**, 45 – 50, 2015. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959438814001639>, sI: Brain rhythms and dynamic coordination.
- [93] Banino, A., Barry, C., Uria, B., Blundell, C., Lillicrap, T., Mirowski, P., *et al.* Vector-based navigation using grid-like representations in artificial agents. *Nature*, **557**, 2018. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095943881100064X>.
- [94] Shimamoto, S. A., Ryapolova-Webb, E. S., Ostrem, J. L., Galifianakis, N. B., Miller, K. J., Starr, P. A. Subthalamic nucleus neurons are synchronized to primary motor cortex local field potentials in parkinson’s disease. *Journal of Neuroscience*, **33** (17), 7220–7233, 2013. URL <http://www.jneurosci.org/content/33/17/7220>.
- [95] Aru, J., Aru, J., Priesemann, V., Wibral, M., Lana, L., Pipa, G., *et al.* Untangling cross-frequency coupling in neuroscience. *Current Opinion in Neurobiology*, **31**, 51 – 61, 2015. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959438814001640>, sI: Brain rhythms and dynamic coordination.
- [96] Cheng, N., Li, Q., Xu, X., Zhang, T. A precise annotation of phase-amplitude coupling intensity. *PLOS ONE*, **11** (10), 1–20, 10 2016. URL <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163940>.
- [97] Canolty, R. T., Knight, R. T. The functional role of cross-frequency coupling. *Trends in Cognitive Sciences*, **14** (11), 506 – 515, 2010. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364661310002068>.

- [98] Tort, A. B. L., Komorowski, R., Eichenbaum, H., Kopell, N. Measuring phase-amplitude coupling between neuronal oscillations of different frequencies. *Journal of Neurophysiology*, **104** (2), 1195–1210, 2010. URL <https://doi.org/10.1152/jn.00106.2010>, pMID: 20463205.
- [99] Carlton, A. G. On the bias of information estimates. **71**, 108–109, 1969.
- [100] Scheffer-Teixeira, R., Tort, A. B. L. Unveiling fast field oscillations through comodulation. *eNeuro*, **4** (4), 2017. URL <http://www.eneuro.org/content/4/4/ENEURO.0079-17.2017>.
- [101] Renno-Costa, C., Tort, A. B. L. Comodo: a toolbox for analysis. *In preparation*, 2014.
- [102] Samiee, S., Baillet, S. Time-resolved phase-amplitude coupling in neural oscillations. *NeuroImage*, **159**, 270 – 279, 2017. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811917306195>.
- [103] Lii, K.-S., Rosenblatt, M. Spectral analysis for harmonizable processes. *Annals of Statistics*, **30** (1), 258–297, 2002. URL <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0036115516&doi=10.1214%2faos%2f1015362193&partnerID=40&md5=5fe046567a1733f9f3603ef8996ec25b>.
- [104] COHEN, M. X. Analyzing neural time series data: Theory and practice. En: Analyzing neural time series data: Theory and practice, tomo 0, pág. 417. MIT Press, Cambridge, 2014.
- [105] Bengio, Y., Courville, A., Vincent, P. Representation learning: A review and new perspectives. *IEEE*, **35** (8), 1798 – 1828, 2013.
- [106] Frbass, F., Hartmann, M., Perko, H., Skupch, A., Dollfu, P., Gritsch, G., *et al.* Combining time series and frequency domain analysis for a automatic seizure detection. **2012**, 1020–3, 08 2012.
- [107] Truong, N. D., Kuhlmann, L., Bonyadi, M. R., Yang, J., Faulks, A., Kavehei, O. Supervised learning in automatic channel selection for epileptic seizure detection. *Expert Systems with Applications*, **86**, 199 – 207, 2017. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0957417417303779>.
- [108] A. T. Tzallas, M. G. T., Fotiadis, D. I. Automatic seizure detection based on time-frequency analysis and artificial neural networks. *Computational Intelligence and Neuroscience*, **2007**, 2007.

- 
- [109] Thodorof, P., Pineau, J., Lim, A. Learning robust features using deep learning for automatic seizure detection. *Arxiv*, 2016.
- [110] Blumenfeld, H., Taylor, J. Why do seizures cause loss of consciousness? *The Neuroscientist*, **9** (5), 301–310, 2003. URL <https://doi.org/10.1177/1073858403255624>, pMID: 14580115.
- [111] Blumenfeld, H. Impaired consciousness in epilepsy. *The Lancet Neurology*, **11** (9), 814 – 826, 2012. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1474442212701886>.
- [112] Quraishi, I. H., Benjamin, C. F., Spencer, D. D., Blumenfeld, H., Alkawadri, R. Impairment of consciousness induced by bilateral electrical stimulation of the frontal convexity. *Epilepsy Behavior Case Reports*, **8**, 117 – 122, 2017. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213323217301111>.
- [113] Mosh, S. L., Galanopoulou, A. S. Searching for the mechanisms of consciousness in epilepsy. *The Lancet Neurology*, **15** (13), 1298 – 1299, 2016. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1474442216302782>.
- [114] Goodfellow, I., Bengio, Y., Courville, A. Deep Learning. MIT Press, 2016. <http://www.deeplearningbook.org>.
- [115] Bartolomei, F., Chauvel, P., Wendling, F. Epileptogenicity of brain structures in human temporal lobe epilepsy: a quantified study from intracerebral eeg. *Brain*, **131** (7), 1818–1830, 2008. URL <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awn111>.



# Publicaciones asociadas

1. *Information-Theoretical Analysis of the Neural Code in the Rodent Temporal Lobe*. Melisa B. Maidana Capitán, Emilio Kropff, Inés Samengo. *Entropy*, **2018** 20(8), 571. <https://doi.org/10.3390/e20080571>
2. *Principal Component Analysis for seizure characterisation in EEG signals*. Melisa Maidana Capitán, Nuria Cámpora, Silvia Kochen, Inés Samengo. (*Submitted to Journal of Biomedical Research*), **2019**



# Agradecimientos

*There is some good in this world, and its worth fighting for.*

– J.R.R. Tolkien, *The Two Towers*

Al momento de comenzar un doctorado difícilmente uno se imagina todos los procesos que atravesará en el medio, y cuantas personas se verán involucradas en su desarrollo y cuantas aparecerán en el transcurso de los años...son muchas las personas para agradecer.

Para empezar, el desarrollo de este proyecto de investigación pudo realizarse gracias a la garantía económica que lo sustenta, por lo que considero necesario comenzar agradeciendo a todos los argentinos que con su aporte permiten el manteniendo de un sistema científico en nuestro país. Y hablar de un sistema científico me lleva a pensar en la situación que hoy la ciencia atraviesa, y en la necesidad de agradecer a las personas que luchan por que esta siga formando parte del presupuesto nacional y sea una prioridad. Dentro de este mismo contexto debo decir que esta tesis representa la culminación de un trayecto de formación de más de diez años, trayecto que hubiese sido imposible sin la existencia de la universidad pública y gratuita. Por eso, mis más sinceros agradecimientos a todos los docentes y no docentes que hacen que el sistema educativo se mantenga, y más aún a aquellos con los que compartí un aula, ya sea como estudiante o como auxiliar. Realmente tuve la suerte de compartir el aula (también la oficina y el grupo de trabajo) con gente que demuestra pasión por lo que hace, y por transmitir el conocimiento. Gracias por enseñarme a tener esa misma pasión. Por otro lado, gran parte de mi formación se dió gracias la posibilidad de asistir a cursos de extensión, por eso agradezco a todos los organismos nacionales e internacionales que me financiaron viajes y estadías para que pudiera reforzar mis estudios, conocer otros laboratorios y universidades y desarrollar nuevas capacidades.

Durante estos años necesité mucho apoyo personal, permanente. Por eso, a mi familia, a quienes le dedico esta tesis debo decirles que este escrito está hecho gracias a ustedes, porque me apoyaron para empezar, me acompañaron para seguir, me hicieron levantar cuando quería abandonar, compartieron mis alegrías y me empujaron a buscarlas, y me insistieron en siempre sacar lo mejor de mí. Me dan todos los días su cariño y amor incondicional, cada uno a su manera, cerca o la distancia. Por eso

mi más profundo, sincero y amoroso agradecimiento a ustedes: mi mejor amigo, compañero, soñador conjunto y esposo Emanuel, y mis oyentes y escoltas incondicionales mamá y papá.

¿Cómo transcurre la vida lejos de Bariloche? Allá, a la distancia, esos amigos que están para mandar whatsapps y telelgrams, y sentirse presentes de manera permanente. Las relaciones a distancia son posibles, si se tiene amigos como estos, que estando a orden 100, 1000 o 10000 km de distancia (incluso en husos horarios diferentes), te acompañan los 365 días del año. Quiero decirles gracias a Guada y Rodri, Raque, Orne y Pau, y Anto por estar acá desde donde sea que estén...y Davi que nunca se sabe dónde estás.

Infinitas son las reuniones, discusiones, charlas necesarias para determinar una línea de trabajo, y aún cuando queda determinada, después todo diverge, y es extremadamente fácil perder el horizonte. Gracias a mi directora Inés, que me enseñó a construir y armar un trabajo que se desarrolla sobre bases sólidas, a transitar por los miles de caminos que se bifurcan cuando se investiga un tema, y por no volverse loca con mis constantes inseguridades. Además este trabajo se hizo gracias al aporte de nuestros colaboradores Emilio, Nuria y Silvia, más allá de aportar los datos están siempre para discutir sobre los análisis, y mejorar nuestras ideas. Emilio, gracias por siempre pedir más, para mejorar...aunque a veces sea agotador. Silvia y Nuria, gracias por siempre darnos el correlato médico, para hacer que nuestro análisis sea más que una descripción teórica.

¿Cómo transcurre la vida en Bariloche, haciendo el doctorado? A veces en este lugar uno se siente aislado, pero la vida es mucho mejor cuando se la comparte con amigos. La mayoría de mis amigos surgieron del ámbito de estudio, del aula y la oficina, y gracias a ellos estos años fueron divertidos, dentro y fuera del cab/ib. Los recuerdos compartidos y su amistad es una de las cosas más lindas que me pasaron estos años: por todo el tiempo compartido, gracias. También a las chicas de coro, gracias, por que son un oasis de risas en el medio de toda la locura.

El desarrollo de esta tesis se enmarca en dos contextos diferentes, FiEstIn y el DFM, dos grupos que hicieron que el doctorado fuese más llevadero, divertido, lleno de mates, tortas, risas, todo lo necesario para tener un hermoso ambiente de trabajo. A ambos grupos, les agradezco por todas las mañanas, tardes e incluso noches compartidas (dentro y fuera de la oficina), y espero que sigan con ese hermoso espíritu grupal, y espero que sigamos compartiendo mates, tortas, sushi, dicitos y asados...en algún momento, en algún lugar.